

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM

FACULTE DES SCIENCES

Département de Biologie

Laboratoire de valorisation des actions de l'homme pour la protection de
l'environnement et application en santé publique

***Effets des acides gras sur la prolifération lymphocytaire,
la composition en acides gras des membranes et le statut
oxydant chez les enfants obèses***

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

Option : PHYSIOPATHOLOGIE CELLULAIRE

Soutenu le 01 juillet 2009

Présentée par

Mlle Méziane Radjaa Kaouthar



Devant le jury composé de :

Président	Mr	D. Chabane sari	Professeur, Université de Tlemcen
Examineur	Mr	M. Aribi	Maître de conférence, Université de Tlemcen
Examineur	Mme	N. Mokhtari	Maître de conférence, Université de Tlemcen
Examineur	Mlle	M. Saker	Chargé de cours, Université de Tlemcen
Promoteur	Mme	H. Merzouk	Professeur, Université de Tlemcen

2008 - 2009

Remerciements

En premier lieu, je remercie **Madame MERZOUK Hafida**, Professeur à l'Université de Tlemcen ma directrice de thèse, qui a guidé judicieusement ces recherches. Je garde en mémoire ses qualités d'encadrement et ses conseils bienveillants. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Je vous remercie pour m'avoir donné la chance de travailler avec vous sur un sujet aussi passionnant, d'être toujours présente et prête à aider vos étudiants. Je vous remercie également pour tous les précieux conseils que vous m'avez donné tout au long de cette thèse.

Je remercie chaleureusement **Monsieur CHABANE SARI D**, Professeur à l'Université de Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je le remercie également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier **Monsieur ARIBI M**, Maître de conférence à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger et d'enrichir ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de mon entière reconnaissance.

Mes remerciements vont également à **Madame MOKHTARI N**, Maître de conférence à l'Université de Tlemcen, pour son aimable compréhension et l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

J'adresse également mes remerciements à **Mlle SAKER M**, Chargé de cours à l'Université de Tlemcen, pour les encouragements, les conseils et l'attention qu'elle a porté à mon égard. Qu'elle trouve ici l'expression de toute mon estime et ma sincère considération.

Je ne pourrais omettre de remercier **Monsieur NARCE Michel**, Professeur à la Faculté des Sciences de Dijon, pour son chaleureux accueil, sa disponibilité, et sa précieuse aide. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude.

Je remercie également **Monsieur MERZOUK SA**, Maître de conférences au département de physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide précieuse dans l'étude statistique.

Enfin, je remercie mes parents, qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et toute ma reconnaissance pour leur soutien et leur patience durant toute ma scolarité.

Dédicaces

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

A mes très chers parents, en témoignage de leur soutien moral et affectif, qu'ils en soient vivement remerciés.

A mes chères frères Mohamed et Ali.

A mes tantes et mes oncles.

A mes cousins et cousines.

Aux petits cousins, Nour, Racim, Rayhene et Yesmine

A toutes les compagnes de mon parcours, Nassima, Souad, Nesrine, Amel, Djamila, Rachida, Zoubida, Nassima, Amina et Iméne.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques de la population étudiée.....	P45
Tableau 02 : Taille et densité des cellules sanguines.....	P50
Tableau 03 : Composition en acides gras et en vitamines des huiles utilisées (huile de poisson, d'olive et de nigelle).....	P53
Tableau 04 : Evaluation des conditions socioéconomiques.....	P60
Tableau 05 : Facteurs prédictifs de l'obésité infantile.....	P62

Liste des tableaux en Annexe

Tableau A1 : Hémogramme chez les enfants obèses et témoins.....	P137
Tableau A2 : Valeurs de la formule leucocytaire chez les enfants obèses et témoins.....	P137
Tableau A3 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10^5 / puit) en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.....	P138
Tableau A4 : Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.....	P139
Tableau A5 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10^5 / puit) en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P140
Tableau A6 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10^5 / puits) en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P141
Tableau A7 : Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.....	P142
Tableau A8 : Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.....	P143

Tableau A9 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P144
Tableau A10 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P145
Tableau A11 : Production d'interleukines 2 (IL-2) par les lymphocytes T isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-2, Pg / ml).....	P146
Tableau A12 : Production d'interleukines 6 (IL-6) par les lymphocytes B isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-6, Pg / ml).....	P147
Tableau A13 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) chez les enfants témoins et obèses.....	P148
Tableau A14 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la Con A chez les enfants témoins et obèses.....	P148
Tableau A15 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la LPS chez les enfants témoins et obèses.....	P149
Tableau A16 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la Con A en présence d'insuline chez les enfants témoins et obèses.....	P149
Tableau A17 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la LPS en présence d'insuline chez les enfants témoins et obèses.....	P150
Tableau A18 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) non stimulés en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....	P151
Tableau A19 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la Con A en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....	P152
Tableau A20 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....	P153

Tableau A21 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la Con A en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P154

Tableau A22 : Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P155

Tableau A23 : Teneurs en malondialdéhyde (MDA, nmol / 10^6 cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P156

Tableau A24 : Teneurs en hydroperoxydes (nmol / 10^6 cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P157

Tableau A25 : Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10^6 cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P158

Tableau A26 : Activité de la catalase intracellulaires (U/ng de protéines) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P159

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes étiopathogéniques unissant accumulation de graisse et insulino-résistance....	P11
Figure 2 : Origine des différentes cellules hématopoïétiques et des cellules de l'immunité.....	P17
Figure 3 : Activation des lymphocytes T et B.....	P19
Figure 4 : Coopération des lymphocytes T et B.....	P21
Figure 5 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	P31
Figure 6 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	P34
Figure 7 : Filiation et métabolisme des acides gras.....	P39
Figure 8 : Les différentes séries d'eicosanoïdes.....	P41
Figure 9 : Préparation du frottis sanguin.....	P47
Figure 10 : Méthode d'isolement et purification des lymphocytes.....	P51
Figure 11 : Représentation schématique de la plaque d'incubation.....	P54
Figure 12 : Hémogramme chez les enfants obèses et témoins.....	P64
Figure 13 : Nombre de lymphocytes, monocytes et polynucléaires chez les enfants obèses et témoins.....	P65
Figure 14 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10 ⁵ / puit) en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.....	P66
Figure 15 : Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.....	P68

Figure 16 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x10 ⁵ / puit) en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P70
Figure 17 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10 ⁵ / puits) en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P72
Figure 18 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.....	P73
Figure 19 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.....	P75
Figure 20 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P77
Figure 21 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.....	P78
Figure 22 : Taux d'interleukine-2 (IL-2) en Pg/ml produite en prolifération basale, en présence de la Con A et d'insuline.....	P80
Figure 23 : Taux d'interleukine-2 (IL-2) en Pg/ml produite par les lymphocytes T stimulés en présence des huiles.....	P81
Figure 24 : Taux d'interleukine-6 (IL-6) en Pg/ml produite en prolifération basale, en présence de la LPS et de l'insuline.....	P82
Figure 25 : Taux d'interleukine-6 (IL-6) en Pg/ml produite par les lymphocytes B stimulés en présence des huiles.....	P83
Figure 26 : Composition en acides gras saturés (AGS : 16 : 0 et 18 : 0) et monoinsaturés (AGMI : 16 : 1 et 18 : 1) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.....	P85
Figure 27 : Composition en acide linoléique (18 : 2 n-6) et en acide arachidonique (20 : 4 n-6) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.....	P86

Figure 28 : Composition en DHA (20 : 5 n-3) et en EPA (22 : 6 n-3) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.....P87

Figure 29 : Teneurs en malondialdéhyde (MDA, nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P90

Figure 30 : Teneurs en hydroperoxydes (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P91

Figure 31 : Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P93

Figure 32 : Activité de la catalase intracellulaire (U/ng de protéines) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.....P94

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AG : Acides gras

AGE : Acides gras essentiels

AGMI : Acides gras monoinsaturés

AGPI : Acides gras polyinsaturés

ARA : Acide arachidonique

BCR : Récepteur à antigène du lymphocyte B

BF₃: Bromotrifluoromethanol

BHT: Butylated hydroxyl toluene

BMI: Body Mass Index

Cu-ZnSOD: Superoxydes dismutases à cuivre-zinc

CDC: Center For Disease Control

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité

COX: Cycloxygénases

CPA : Cellule présentatrice de l'antigène

CRP : Protéine C réactive

CSF: Cell Stem Factors

DAG: Diacylglycérol

DGLA : Acide dihomo- δ -linoléique

DHA : Acide docosahexaénoïque

DNID : Diabète non insulino-dépendant

DNPH : Dinitrophénylhydrazine

DO : Densité optique

ENNS : Enquête nationale nutrition santé

EOA : Espèces oxygénées activées

EPA : Acide eicosapentaénoïque

ES: Erreur standard

FRCP: Ferric reducing capacity power

GPX : Glutathion peroxydase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HDL: High density lipoprotein

HEPES: Acide hydroxyethyl pipérazine éthane sulfurique

HETEs: Acides hydroxylés

His: Histamine

HLA: Human leukocyte antigen

HPETE: Acide hydroperoxydé

IFN γ : Interférons γ

IL : Interleukine

IMC: Index de masse corporelle

IOTF: International Obesity Task Force

IQ: Indice de Quetelet

LAF: Leucocyte activating factor

LDL: Low density lipoproteins

Lox: Lipoxygénases

LPO : Peroxydes lipidiques

LTs : Leukotriènes

MAP kinases : Mitogen active protein kinase

MDA : Malondialdéhyde

MnSOD : Superoxydes dismutases à manganèse

MTT: Thiazolyl bleu tétrazolium

NK: Natural killer

NO: Monoxyde d'azote

O₂⁻: Anion superoxyde

OH: Radical hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONOOH : Nitroperoxyde

ORAC: Oxygen radical absorbance capacity

PA : Acide phosphatidique

PAI-1 : Activateur du plasminogène

PGs : Prostaglandines

Phe : Phénylalanine

PKC : Protéine kinase C

RE : Réticulum endoplasmique

ROO : Radicaux peroxydes

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SOD : Superoxydes dismutases

TAP : Protéines de transport des peptides

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique

TCA : Acide Trichloroacétique

TCGF : T cell growth factor (Facteur de croissance des cellules T)

TCR : Recepteur des lymphocytes T

TEAC : Trolox equivalent absorbance capacity

TH1: T helper de type 1

TH2: T helper de type 2

TNF α : Facteurs de nécrose des tumeurs

TPP : Triphenylphosphine

TTL : Test de transformation lymphocytaire

TXs : Thromboxanes

Tyr: Tyrosine

ϵ : Coefficient d'extinction

15-OH-GLA : Acide hydroxy-gamma linoléique

8-OH-dG: 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine

Sommaire

<u>Introduction</u>	01
<u>Synthèse bibliographique</u>	
I.L'obésité infantile	06
I.1. Définition et différents types d'obésité.....	06
I.2. Causes de l'obésité infantile.....	07
I.2.1. Héritéité.....	07
I.2.2. Poids de naissance.....	08
I.2.3. Allaitement Maternel.....	08
I.2.4. Apports alimentaires.....	08
I.2.5. Sédentarité.....	08
I.2.6. Facteurs psychologiques.....	09
I.2.7. Facteurs socio-économiques.....	09
I.3. Conséquences de l'obésité infantile.....	09
I.3.1. Persistance de l'obésité à l'âge adulte.....	09
I.3.2. Conséquences psychologiques	10
I.3.3. Conséquences physiologiques	10
II. Obésité et troubles métaboliques	10
II.1. Résistance à l'insuline.....	10
II.2. Dyslipidémie	14
II.3. Hypertension	14
II.4. Syndrome métabolique	15
III. Obésité, système immunitaire et stress oxydatif	15
III.1. Système immunitaire	15

III.1.1. Cellules du système immunitaire.....	16
III.1.1.1. Cellules phagocytaires	16
III.1.1.2. Cellules lymphoïdes	16
a)- Lymphocytes B.....	18
b)- Lymphocytes T.....	18
III.1.2. Système HLA	22
III.1.3. Cytokines	22
III.1.3.1. Définition	22
III.1.3.2. Cellules productrices de cytokines	23
III.1.3.3. Propriétés principales de diverses cytokines	24
a)- Interleukine 1 (IL-1)	24
b)- Interleukine 2 (IL-2)	24
c)- Interleukine 4 (IL-4).....	25
d)- Interleukine 5 (IL-5)	25
e)- Interleukine 6 (IL-6)	25
f)- Interleukine 10 (IL-10).....	25
g)- Facteurs de nécrose des tumeurs (TNF α et TNF β).....	26
h)- Interférons	26
i)- Cytokines de l'hématopoïèse	26
III.1.4. Système immunitaire et obésité.....	26
III.2. Stress oxydatif.....	29
III.2. 1. Définition et origine	29
III.2. 2. Principaux radicaux libres.....	30
III.2. 3. Principaux antioxydants.....	32
III.2. 4. Marqueurs du stress oxydatif.....	33

III.2.5. Stress oxydatif et obésité	36
IV. Effets des acides gras et des lipides alimentaires sur les cellules du système immunitaire.....	37

Matériels et méthodes

I. Population étudiée.....	44
II. Etude épidémiologique	44
II.1. Enquête socioéconomique	44
II.2. Enquête sur les facteurs prédictifs.....	46
III. Etude biochimique et immunologique	46
III.1. Prélèvements sanguins	46
III.2. Analyse des paramètres hématologiques	46
III.2.1. Frottis sanguin.....	46
III.2.2. Numération globulaire	48
a)- Numération des hématies	48
b)- Numération des leucocytes.....	48
c)- Numération des plaquettes	48
III.2.3. Dosage de l'hémoglobine	48
III.3. Paramètres immunologiques.....	49
III.3.1. Isolement des lymphocytes	49
III.3.2. Test de transformation lymphocytaire (TTL).....	52
III.3.2.1. Comptage des lymphocytes.....	55
III.3.2.2. Dosage des protéines.....	55
III.3.3. Dosage des interleukines.....	55
III.3.3. 1. Dosage des interleukines 2 (IL-2).....	55
III.3.3. 2. Dosage des interleukines 6 (IL-6).....	56

III.3.4. Détermination de la composition en acides gras des phospholipides membranaires..	56
IV. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des lymphocytes.....	57
IV. 1. Dosage du malondialdéhyde.....	57
IV. 2. Dosage des hydroperoxydes.....	57
IV. 3. Dosage des protéines carbonylées.....	58
IV. 4. Dosage de l'activité de la catalase.....	58
V. Analyse statistique	58

Résultats et Interprétation

I. Etude épidémiologique.....	59
I.1. Evaluation des conditions socioéconomiques.....	59
I.2. Facteurs prédictifs de l'obésité infantile.....	61
II. Etude hématologique.....	63
II.1. Hémogramme chez les enfants obèses et témoins.....	63
II.2. Nombre de lymphocytes, monocytes et polynucléaires chez les enfants obèses et témoins.....	63
III. Etude immunologique.....	63
III.1. Comptage des lymphocytes.....	63
III.1.1. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.....	63
III.1.2. Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles	67
III.1.3. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins	69
III.1.4. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins	71

III.2. Teneurs en protéines totales	71
III.2.1. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins	71
III.2.2. Teneurs en protéines totales des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles	74
III.2.3. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins	76
III.2.4. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins	76
III.3. Teneurs en interleukines.....	79
III.3.1. Production d'interleukines 2 (IL-2) par les lymphocytes T isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-2, Pg / ml).....	79
III.3.2. Production d'interleukines 6 (IL-6) par les lymphocytes B isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-6, Pg / ml).....	79
III.4. Composition en acides gras des phospholipides membranaires.....	84
III.4.1. Composition initiale en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), isolés des enfants obèses et témoins.....	84
III.4.2. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après stimulation par la Con A.....	84
III.4.3. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile de poisson.....	88
III.4.4. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile de nigelle.....	88
III.4.5. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile d'olive.....	88
IV. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des lymphocytes.....	89

IV.1. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses	89
IV.2. Teneurs en hydroperoxydes des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses	89
IV.3. Teneurs en protéines carbonylées des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses	92
IV.4. Activité de la catalase intracellulaire des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses	92
Discussion	95
Conclusion	105
Références bibliographiques	107
Annexes	118

Introduction

Introduction

L'obésité figure parmi les plus graves problèmes de santé publique du XXI^e siècle. C'est une véritable épidémie qui frappe aussi bien les pays industrialisés que les pays en voie de développement. L'obésité est un sujet de grandes préoccupations en raison de sa prévalence élevée, des risques qu'elle représente pour la santé à long terme, et des coûts médicaux élevés qu'elle entraîne (Katzmarzyk et al., 2004). L'Organisation Mondiale de la Santé place actuellement sa prévention et sa prise en charge comme une priorité dans le domaine de la pathologie nutritionnelle.

Au cours des dernières décennies, l'obésité a gagné du terrain en raison de la mutation de l'environnement culturel, physique et socioéconomique. Au sein de la population, un déséquilibre énergétique s'est installé à cause du recul spectaculaire de l'activité physique et de la modification radicale des habitudes alimentaires (Wilborn et al., 2005).

L'augmentation de la prévalence de l'obésité est alarmante. Dans le monde, 1,6 milliard d'adultes ont un excès de poids, et au moins 500 millions d'entre eux sont obèses. Les pays en développement ne sont pas épargnés, 115 millions de leurs habitants sont obèses. La prévalence de l'obésité dépasse même celle de la malnutrition (OMS, 2006).

Aux États-Unis, la prévalence de la surcharge pondérale s'élève à 66,3 % de la population. Deux Américains sur trois sont donc en surcharge pondérale, un sur trois étant en surpoids (34,1 %) et un sur trois étant obèse (32,2 %) (Rigby et al., 2003).

En Chine, plus d'un cinquième de la population adulte est en surcharge pondérale. 200 millions de chinois sont en surpoids et 90 millions sont obèses. Le nombre d'obèses aurait doublé en cinq ans (Luo et al., 2002).

Selon les données les plus récentes collectées dans les 27 pays de l'Union européenne, la prévalence du surpoids chez les adultes est de 35,9 % et celle de l'obésité de 17,2 %. Au total, la prévalence de la surcharge pondérale s'élève à 53 % de la population.

En France, la corpulence a fortement augmenté depuis 1981, avec une forte accélération depuis les années 1990. Selon les résultats de l'enquête nationale nutrition santé (ENNS) de 2003, La prévalence de l'obésité est de 16,9 % et celle du surpoids est de 32,4 % (IOTF, 2003).

Au Maroc et en Tunisie, l'obésité touche 13 à 14 % de la population et 37.7% en Mauritanie. L'Algérie, comme les autres pays du Maghreb en plein essor économique, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes. En effet près de la moitié de notre population présente une obésité. Le tiers accuse un surpoids, 15,1% ont un excès pondéral franc et 1,2 % une obésité morbide (Kemali, 2003).

Aujourd'hui l'obésité n'est plus seulement l'apanage des adultes. Elle touche aussi depuis quelques années les enfants. L'accroissement dramatique de la prévalence de l'obésité pédiatrique et de ses conséquences morbides ainsi que sa tendance à persister à l'âge adulte constituent un problème de santé publique important (Vance et al., 2004).

Aux Etats-Unis, le nombre d'enfants obèses a doublé en cinq ans et certaines mesures de l'index de masse corporelle (IMC) font état de 35% d'enfants en surcharge pondérale dans la tranche d'âge de 6 à 17 ans (Rigby et al., 2003).

En Europe, un enfant sur quatre serait en surpoids, soit plus de 22 millions de cas. Parmi eux, cinq millions seraient obèses. En outre, il y aurait 400 000 enfants obèses supplémentaires en Europe chaque année (IOTF, 2003).

En France, selon l'enquête nutrition santé (ENNS) de 2006, près d'un enfant sur cinq est en surcharge pondérale : 3,5 % sont obèses, soit près de 450 000 enfants de moins de 15 ans, et 14,3 % sont en surpoids, soit environ 1,7 million d'enfants.

En Asie, on observe également une augmentation de la prévalence de l'excès de poids. Cependant, il existe de grandes variations de cette prévalence dans les différentes régions. En 1995, l'OMS a estimé à environ 2,9 % la prévalence de l'excès de poids chez les enfants en âge préscolaire pour l'Asie. Les données issues d'études réalisées dans plusieurs pays montrent une prévalence plus élevée, allant de 5 à 9% en agglomération urbaine (Brunei, Kuala Lumpur, régions urbaines de Thaïlande et de Chine). Dans plusieurs autres pays en voie de développement, la prévalence est probablement très basse, inférieure à 1% (Philippines, Vietnam, Laos) (E-Siong, 2002).

L'obésité toucherait également entre 3 et 5 % des enfants au Maghreb. Ce taux atteint 10 % si on compte les enfants en surpoids, à la limite de l'obésité (De Onis et al., 2000). En Algérie, selon l'enquête réalisée récemment dans la population urbaine de l'est Algérien, la prévalence du surpoids et l'obésité est de 21,5 %. Le surpoids seul touche 15,9% et l'obésité 5,6% des enfants (Oulamara et al., 2006).

Les conséquences de l'obésité pour la santé sont nombreuses et variées, allant d'un risque accru de décès prématuré à plusieurs maladies non mortelles mais ayant des effets indésirables sur la qualité de vie. L'obésité est également un facteur de risque important de maladies non transmissibles, tels que le diabète non insulino-dépendant (DNID), les pathologies cardio-vasculaires, l'hypertension et certains cancers, et est associée dans un bon nombre de pays industrialisés à divers problèmes psychosociaux (Samartin et al., 2001).

De nombreuses études ont montré par ailleurs que l'obésité est associée à un état inflammatoire chronique qui se caractérise par une augmentation des concentrations circulantes de plusieurs protéines de l'inflammation (protéine C réactive, fibrinogène, etc.) et de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL6 et leptine). Les fonctions biologiques de ces adipokines ainsi que les conséquences de l'augmentation de leurs concentrations circulantes suggèrent qu'elles pourraient jouer un rôle déterminant dans la mise en place et le développement de nombreuses complications de l'obésité (Brichard et al., 2003).

L'obésité est accompagnée également par des signes d'immuno-déficience qui se caractérisent par une atrophie des organes lymphoïdes, une baisse de l'activité bactéricide des phagocytes, une altération de la réaction d'hypersensibilité retardée et un accroissement de la sensibilité aux infections (Zaldivar et al., 2006).

Cette immunodépression pourrait être en rapport avec un excès d'apport en certains micronutriments, avec certaines hypertriglycéridémies, mais aussi avec certains déficits engendrés par des régimes trop restrictifs trop souvent répétés (Samartin et al., 2001).

Un déficit énergétique majeur ainsi que celui en un ou plusieurs nutriments tels vitamines A, B6, B12, C, E, acide folique, zinc, cuivre, fer, sélénium, acides aminés essentiels, peut altérer la fonction immunitaire et augmenter la sensibilité aux infections. Cela est lié à l'implication des nutriments dans les réponses moléculaires et cellulaires du système immunitaire.

La dénutrition chez les sujets obèses, peut aussi altérer les mécanismes de défense de l'organisme, notamment par le biais d'une augmentation de la production cellulaire de dérivés réactifs de l'oxygène et une diminution des molécules antioxydantes (vitamines C, E, caroténoïdes...) et de métallos-enzymes impliquées dans la détoxification de ces substances réactives ce qui peut être à l'origine d'un stress oxydatif (Calder et al., 2002 b).

De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydatif au cours de l'obésité tenant à la fois à l'augmentation de la production des radicaux oxygénés et la diminution des capacités antioxydantes (Furukawa et al., 2004). Le stress oxydatif est également présent chez les enfants obèses (Mohn et al., 2005). Il a été démontré qu'il est à l'origine des complications métaboliques associées à l'obésité (Furukawa et al., 2004).

Plusieurs facteurs, tels que des perturbations métaboliques, l'inflammation, des cytokines, la présence d'oxydants exogènes, peuvent conduire à la formation de radicaux libres. Les radicaux libres réagissent avec des substrats oxydables (glucose, protéines, acides gras) et produisent des radicaux carbonyles. Ces derniers ont de multiples effets intracellulaires, dont la glycation de protéines, l'altération de la structure de l'ADN, la génération de produits de peroxydation des lipides, et la modulation de la transcription de nombreux gènes (Morel et al., 1999). Les nutriments antioxydants sont donc particulièrement indispensables à la protection des cellules immunitaires, sensibles au stress oxydatif (Ferrandez et al., 1998).

L'influence des acides gras provenant des huiles alimentaires sur les phénomènes inflammatoires et la réponse immunitaire a fait l'objet de nombreux travaux. Les acides gras polyinsaturés oméga-3 (AGPI n-3) et oméga-6 (AGPI n-6) ont été tout particulièrement étudiés.

Intégrés au sein des phospholipides de la membrane cellulaire, les acides gras en déterminent la composition, avec différentes conséquences fonctionnelles. La membrane fournit également les précurseurs lipidiques de différents médiateurs inflammatoires. Ainsi, la richesse en acides gras polyinsaturés oméga-6 (AGPI n-6) membranaires dépend de la quantité d'acide arachidonique disponible pour la production d'eicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes, thromboxanes) régulant l'activité des cellules inflammatoires, la production associée de cytokines et la fonction des lymphocytes B (Calder et al., 2002 a).

Il est généralement admis que les acides gras polyinsaturés oméga- 3 (AGPI n-3) développent les activités immunomodulatrices les plus puissantes. Agissant comme des compétiteurs des AGPI n-6, ils entraînent une réduction de la production d'eicosanoïdes dérivés de l'acide arachidonique, base de leur action clinique bénéfique observée dans diverses maladies inflammatoires chroniques (Belluzzi, 2002).

Les acides gras polyinsaturés alimentaires sont également des catalyseurs essentiels favorisant le rendement utilitaire des vitamines contre le stress oxydatif, en particulier la vitamine E, principal antioxydant membranaire qui permet de préserver la fluidité des membranes des cellules immunitaires dont les fonctions dépendent aussi de leur contenu en acides gras (Calder et al., 2002 b).

Au cours de ces dernières années, de nombreux travaux ont été réalisés sur l'immunomodulation par les acides gras polyinsaturés (APGI) alimentaires qui peuvent être soit immunosuppresseurs soit immunostimulateurs. Les mécanismes d'action pourraient être liés à une modification de la sécrétion des cytokines ou à la composition en acides gras des lipides des membranes des lymphocytes (Sweeney et al., 2005). Ainsi, les effets immunomodulateurs des acides gras polyinsaturés (APGI) peuvent être exploités dans la prévention et le traitement des complications associées à l'obésité.

Le but de notre travail est de déterminer les effets in vitro de trois huiles alimentaires sur la prolifération des lymphocytes T et B, la composition en acides gras de leurs membranes, la sécrétion des interleukines 2 et 6, et la variation de quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant cellulaire.

Les huiles alimentaires testées sont l'huile de poisson, l'huile d'olive, et l'huile de nigelle.

L'étude est réalisée sur des enfants obèses et témoins de la région de Tlemcen.

Notre objectif principal est d'approfondir nos connaissances sur les altérations du système immunitaire associées à l'obésité infantile, et de démontrer que les acides gras polyinsaturés (APGI) peuvent améliorer la prolifération des lymphocytes et leur profil oxydant/antioxydant et par la suite intervenir dans les stratégies de prévention et de traitement de l'obésité infantile.

Synthèse bibliographique

I. Obésité infantile

I.1. Définition et différents types d'obésité

L'obésité résulte d'une accumulation progressive de graisses, ou de tissus adipeux, sous la peau et entre les viscères. Il s'agit d'un excès de masse grasse qui peut entraîner des problèmes de santé à court et à long terme.

Les sujets obèses montrent des différences non seulement dans les excédents de graisse qu'ils accumulent, mais aussi dans la répartition anatomique de cette graisse. Cette répartition de la masse grasse joue un rôle dans les risques associés à l'obésité et le type de maladie qui en résulte (OMS, 2006). Il est donc utile de pouvoir distinguer les sujets présentant un risque augmenté du fait d'une «répartition abdominale de la graisse», souvent connue sous le nom d'«obésité androïde», de ceux qui montrent une répartition «gynoïde» et qui correspond à une concentration de graisses dans les parties inférieures du corps (hanches, fesses et cuisses). Cet excès de graisses a moins de conséquences sur le métabolisme que dans le cas d'une obésité abdominale, le risque cardiovasculaire restant inchangé (Ribeiro et al., 2006).

En pratique clinique, l'adiposité peut être évaluée par l'Indice de Masse Corporelle (IMC) qui est un bon reflet de la corpulence. L'IMC est aussi appelé Indice de Quetelet (IQ) ou Body Mass Index en anglais (BMI). D'après l'OMS, il s'agit de l'outil le plus utile pour mesurer le risque de maladie associé à l'excès de poids chez les adultes.

Cet indice se calcule en divisant le poids (kg) par la taille au carré (m^2). On parle d'embonpoint lorsqu'il se situe entre 25 et 29,9, d'obésité lorsqu'il égale ou dépasse 30, et d'obésité morbide au-delà de 40. C'est le seuil à partir duquel on risque de voir apparaître une morbidité secondaire à différents types de complications (Kopelman, 2000).

Chez l'enfant, l'obésité est beaucoup plus complexe à définir en raison des variations de poids en fonction de l'âge (Chiolero et al., 2007). Il est donc indispensable, de consulter des courbes dites courbes de référence qui représentent pour chaque sexe la valeur de l'IMC en fonction d'âge (Kopelman, 2000).

Il existe différentes courbes de référence de corpulence : courbe de la corpulence française ; courbe de l'organisation mondiale de la santé (OMS) ; référence de l'International Obesity Task Force (IOTF) ; et les nouvelles courbes du Center For Disease Control (CDC).

En Algérie, comme dans la plupart des pays du Maghreb, les courbes d'IMC sont celles des carnets de santé basées sur les courbes de la corpulence françaises (Rolland-Cacher et al., 2002).

Sur les courbes de référence, on parle d'obésité infantile pour un IMC \geq 97ème percentile de la distribution pour un âge donné, et de surpoids pour un IMC \geq 90ème percentile (Cole et al., 2000).

Au cours de la croissance, la corpulence varie de manière physiologique. En moyenne, la corpulence augmente la première année de la vie, puis diminue jusqu'à 6 ans, puis croît à nouveau jusqu'à la fin de la croissance. La remontée de la courbe d'IMC qui survient physiologiquement vers l'âge de 6 ans s'appelle le rebond d'adiposité.

La précocité de l'âge du rebond de l'indice de masse corporelle (IMC) est un des meilleurs facteurs prédictifs d'obésité. Chez l'enfant obèse il est en moyenne égal à 3 ans, et presque toujours inférieur à 6 ans (Lobstein et al., 2004).

I.2. Causes de l'obésité infantile

L'obésité est une affection multifactorielle, résultant de l'expression d'une susceptibilité génétique sous l'influence de facteurs environnementaux avec, au premier rang, la diététique et le comportement alimentaire, ainsi que le mode de vie et la sédentarité (Vance et al., 2004).

I.2.1. Héritéité :

L'obésité parentale est reconnue comme un facteur de risque majeur d'obésité future (Arenz et al., 2004). Selon la recherche actuelle, la génétique influencerait jusqu'à 25 à 40 % de la variabilité de l'indice de masse corporelle. Près de 300 gènes et marqueurs biologiques ont déjà été liés à l'obésité. Ces facteurs interagissent entre eux ainsi qu'avec des facteurs environnementaux pour accroître la prédisposition à l'obésité (Chagnon et al., 2003).

L'obésité est plus présente dans certaines familles que dans d'autres; cependant, il est difficile de cerner l'impact des facteurs génétiques, puisque les membres d'une même famille peuvent aussi partager un même mode de vie et les mêmes influences environnementales.

Néanmoins, l'existence d'une obésité parentale constitue un important facteur de risque (Bhave et al., 2004).

I.2.2. Poids de naissance :

Un surpoids à la naissance a aussi été identifié comme facteur de risque d'une obésité (Lobstein, 2004). De même, les enfants nés avec un petit poids suite à un retard de croissance intra-utérin, favorisé par un tabagisme maternel ou une malnutrition pendant la grossesse par exemple, sont à risque de développer une obésité ultérieurement (Arenz et al., 2004).

I.2.3. Allaitement Maternel :

L'allaitement maternel prolongé (environ 6 mois) est inversement corrélé au risque d'obésité et a un effet protecteur.

Dans une étude longitudinale menée en Allemagne sur 918 nouveaux-nés, Arenz et al. (2004) ont comparé les effets de l'allaitement maternel (pendant 3 mois ou plus) versus l'allaitement artificiel sur le surpoids et l'adiposité à l'âge de six ans. L'allaitement artificiel précoce avancerait le rebond adipeux, lui-même prédictif d'obésité à l'âge adulte.

I.2.4. Apports alimentaires :

L'obésité est liée à un déséquilibre chronique entre les dépenses énergétiques et les apports alimentaires. Les enfants mangent désormais de façon déstructurée. Le grignotage permanent s'est substitué au repère des quatre repas traditionnels : petit-déjeuner, repas du midi, goûter et repas du soir. Par ailleurs, ils consomment de plus en plus d'aliments tels que les chips, les barres chocolatées, les biscuits, les produits panés qui, sous un faible volume, contiennent beaucoup de calories et de lipides sans créer de sentiment de satiété (Maffeis et al., 2001).

I.2.5. Sédentarité

Plusieurs études signalent que l'activité physique des enfants et des adolescents est inférieure à ce que l'on recommande actuellement. Comme ces tendances ont un effet direct sur le bilan énergétique et la constitution du corps humain, on estime qu'elles ont grandement contribué à l'augmentation de la prévalence de l'obésité infantile (Vance et al., 2004).

L'inactivité physique est souvent indirectement estimée par le nombre d'heures passées devant la télévision. En effet, la prévalence de l'obésité chez l'enfant a augmenté de façon importante parallèlement à un changement majeur dans les loisirs des enfants et dans leurs comportements. Cela a conduit à une réduction générale de l'activité physique de la vie quotidienne et de l'activité sportive

à l'école et en dehors de celle-ci, et à une augmentation de la sédentarité (télévision, ordinateurs, ...) (Bhave et al., 2004).

1.2.6. Facteurs psychologiques

Il existe plusieurs mécanismes psychologiques selon lesquels une perturbation émotionnelle peut aboutir à une consommation alimentaire qui dépasse les besoins physiologiques. D'après les experts de l'OMS, en cas d'obésité extrême particulièrement, les facteurs d'ordre émotionnel jouent un grand rôle. Certains enfants en souffrance ont recours à la nourriture pour trouver le réconfort qui leur fait défaut, et pour combattre divers stressés et états émotionnels. Il existe aussi certains cas où un événement familial particulier – tel qu'un déménagement, un divorce, un deuil – peut être à l'origine du surpoids (Wilborn et al., 2005).

1.2.7. Facteurs socio-économiques

Un niveau socio-économique bas est généralement un facteur de risque d'obésité et de surcharge pondérale chez les adultes comme chez les enfants (Arenz et al., 2004).

Ce fait peut être imputable à une alimentation sous-optimale, qui serait plutôt riche en matières grasses et en sucres. Les sujets provenant de classes défavorisées ont aussi davantage tendance à sauter le petit déjeuner. De plus, le manque d'activité physique est courant chez les enfants des classes défavorisées. Cette situation pourrait être partiellement imputable à la rareté des programmes et des installations locales dans les régions et les écoles de milieu défavorisé, ainsi qu'aux faibles possibilités qu'il y a de pratiquer des sports ailleurs qu'à l'école (Hulshof et al., 2003).

1.3. Conséquences de l'obésité infantile :

1.3.1. Persistance de l'obésité à l'âge adulte :

La probabilité de persistance de l'obésité à l'âge adulte augmente en cas d'obésité parentale. Elle augmente également avec l'âge de l'enfant et la sévérité de son obésité. La probabilité de persistance de l'obésité à l'âge adulte varie entre 20-50% avant la puberté et 50-70 % après la puberté (Reilly et al., 2002).

I.3.2. Conséquences psychologiques :

Elles sont le plus souvent d'ordre social, avec en particulier une mauvaise estime de soi, une diminution des performances scolaires et un rejet social. Dès le plus jeune âge, l'enfant obèse est fréquemment isolé, rejeté, mis à l'écart par ses camarades et souvent aussi par ses professeurs, et victime de moqueries de la part de ses camarades. A l'adolescence, cette discrimination s'amplifie, avec une image de soi négative, un risque accru de dépression et une faible insertion sociale (Bhave et al., 2004).

I.3.3. Les conséquences physiologiques :

L'obésité infantile ne touche pas seulement la qualité de vie et l'estime de soi. Les enfants obèses peuvent affronter plusieurs problèmes de santé. Certains troubles métaboliques comme l'insulinorésistance, les dyslipidémies et l'hypertension peuvent survenir précocement (Chiolero, 2007).

Chez l'adolescent, l'obésité peut entraîner des troubles endocriniens (puberté précoce, aménorrhée) ainsi que des cas de diabète de type 2 très précoces.

Par ailleurs, certaines études montrent que l'obésité des jeunes, et particulièrement des adolescents, augmente à long terme les risques de maladies cardiovasculaires de cancers du colon et du sein. La responsabilité du mode de vie et de l'alimentation dans la survenue de lésions d'athérome précoce est connue depuis longtemps. D'autres conséquences métaboliques dépassent le champ bien connu du diabète et des maladies cardiovasculaires. L'hypoxémie chronique, par exemple, est très fréquemment présente (Basdevant, 2002).

II. Obésité et troubles métaboliques

II.1. La résistance à l'insuline

L'insulinorésistance est l'anomalie fondamentale qui précède le diabète non insulino dépendant (DNID). Sur le plan métabolique, l'insulinorésistance est secondaire à l'excès de graisses au niveau des muscles et du tissu adipeux viscéral (Figure 1) (Shulman, 2000).

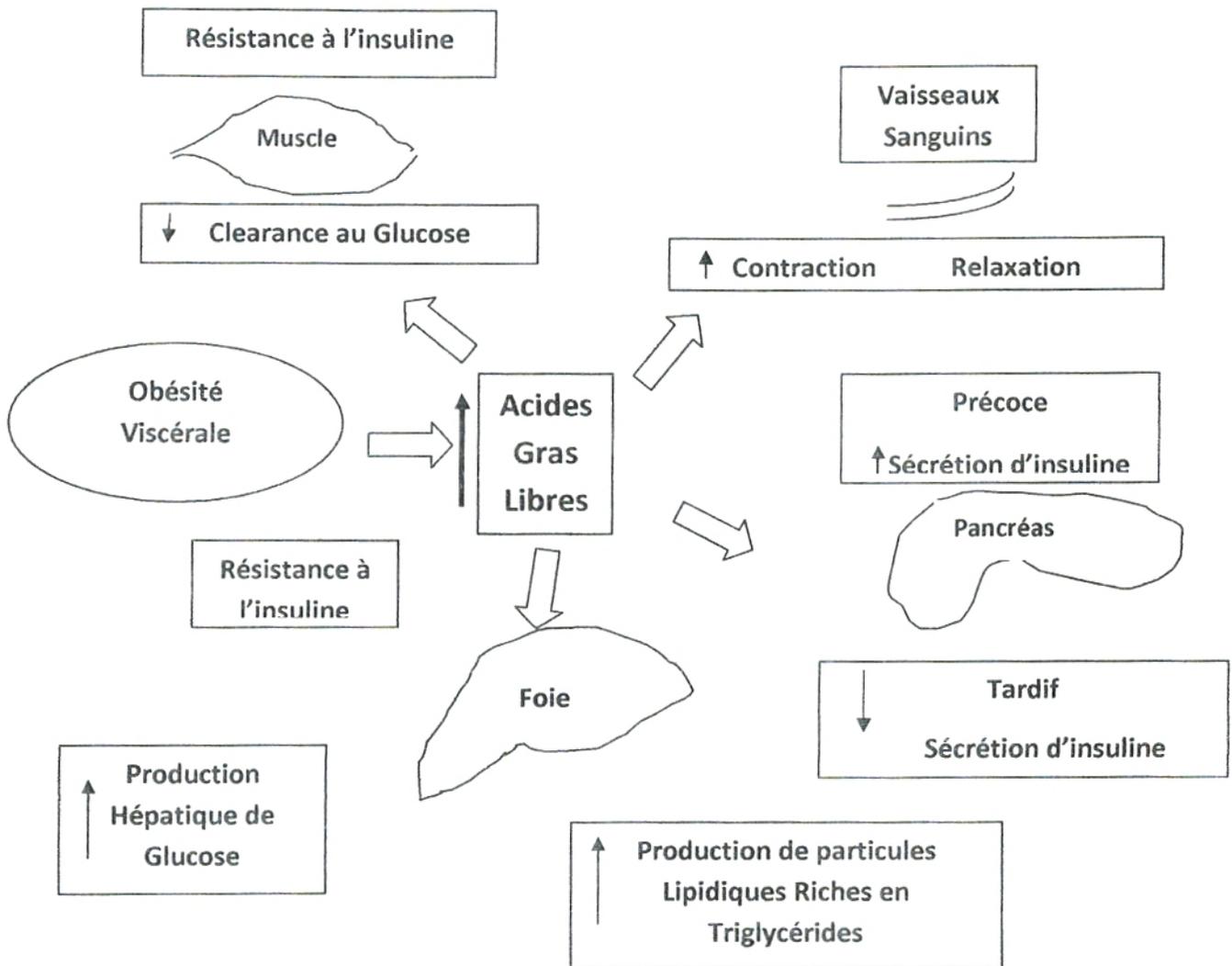


Figure 1 : Mécanismes étiopathogéniques unissant accumulation de graisse et insulino-résistance (Colin, 2006).

Chez les obèses, on observe une augmentation de la concentration circulante d'acides gras libres provenant de la lipolyse des triglycérides du tissu adipeux.

La lipolyse est augmentée malgré l'action anti-lipolytique de l'insuline, elle-même plus élevée chez les obèses. Physiologiquement, ces acides gras libres sont la principale source d'énergie chez les sujets à jeûn. Avec l'obésité, le flux circulant excède les besoins des différents tissus. L'importance du rôle des acides gras dans la résistance à l'insuline explique en grande partie la relation entre l'obésité abdominale et le risque de diabète (Lefebvre, 2003).

La graisse viscérale est elle-même plus résistante à l'action de l'insuline que la graisse sous-cutanée. Elle est ainsi moins sensible à l'action anti-lipolytique de l'insuline et la production d'acides gras à partir du tissu viscéral est plus prononcée qu'à partir des autres dépôts. De plus, le tissu adipeux viscéral a un accès direct à la circulation portale ; l'augmentation des acides gras dans la circulation portale est responsable de leurs effets (Goldstein, 2002).

Une entrée excessive d'acides gras dans le muscle entraîne une résistance à l'insuline. En effet, un excès d'acides gras libres *in vivo* contribue à la diminution de l'utilisation du glucose en inhibant son oxydation (cycle « glucose-acides gras »), et donc au développement du diabète de type 2. Cependant, cette hypothèse n'explique pas tous les effets des acides gras (Girard, 2004).

Le rôle des acides gras dans la signalisation insulinaire (blocage) a été évoqué. Une augmentation des métabolites des acides gras (diacylglycérol et acyl-coA) au niveau du muscle stimule la phosphorylation des récepteurs à l'insuline par la protéine kinase C, inhibe les mécanismes de la signalisation insulinaire et entraîne ainsi une réduction du transport du glucose et une hyperglycémie (Yu et al., 2002).

Au niveau du foie, les acides gras libres augmentent son contenu en triglycérides. Cette accumulation provoque une insulino-résistance comme dans le cas du muscle.

L'inhibition de l'action de l'insuline stimule la néoglucogénèse hépatique et la sortie hépatique de glucose. De plus, les acides gras fournissent également les cofacteurs nécessaires à la néoglucogénèse hépatique.

Les acides gras qui jouent un rôle majeur dans la résistance à l'insuline pourraient également jouer un rôle aussi important dans la perte de la fonction des cellules β (Girard, 2004).

En effet, ce sont des substrats énergétiques majeurs de la cellule β des îlots de Langerhans. À court terme, les acides gras potentialisent la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.

À long terme, ils inhibent la sécrétion d'insuline et provoquent une lipotoxicité. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cet effet. Les acyl-coA qui s'accumulent dans la cellule β en réponse à une exposition chronique à des concentrations élevées d'acides gras se lient au canal K^+ dépendant de l'ATP et empêchent sa fermeture, contribuant à la perte de sensibilité de la cellule β au glucose. Une 2ème explication est la modification de l'expression des gènes contrôlant le métabolisme du glucose et des acides gras (Glut 2, glucokinase, acétyl-coA carboxylase, etc.) aboutissant à une diminution du métabolisme du glucose dans les îlots (Mouraux et al., 2005).

Les acides gras ont également un effet découplant sur les mitochondries (diminution de la synthèse d'ATP) partiellement responsable de l'inhibition de l'insulino-sécrétion en réponse au glucose, avec augmentation de la production de radicaux libres jouant certainement un rôle dans les phénomènes d'apoptose. L'augmentation du contenu en lipides des îlots entraîne une augmentation de la synthèse de céramide qui stimulerait la formation de monoxyde d'azote (NO) et le déclenchement de l'apoptose (Poitout et al., 2002).

De plus, les facteurs produits par le tissu adipeux jouent eux aussi un rôle primordial dans la physiopathologie de l'insulinorésistance. Plusieurs adipokines sont augmentées au cours de l'obésité et ont été impliquées dans l'insulinorésistance (Fève et al., 2006).

Les adipocytes des sujets obèses sécrètent plus de TNF- α (Facteur de Nécrose Tumorale- α). Il exerce un effet insulinorésistant par phosphorylation du récepteur de l'insuline. Au niveau de la cellule β , le TNF- α inhibe la sécrétion d'insuline et déclenche l'apoptose des cellules β (Eldor et al., 2006).

Inversement, la leptine et l'adiponectine exercent un effet insulino-sensibilisant, au moins en partie en favorisant l'oxydation des acides gras par activation de l'AMP-activated kinase. Dans l'obésité, l'insulinorésistance a été reliée à une résistance à la leptine et une diminution de l'adiponectine plasmatique (Guerre-Maillo, 2002).

En effet, la leptine inhibe la sécrétion d'insuline, au niveau de la cellule β . Il existe une boucle de feedback, appelée l'axe adipo-insulaire, où l'insuline augmente la sécrétion de leptine qui, en réponse, inhibe la sécrétion d'insuline. Une possible leptinorésistance, dans laquelle la boucle est perturbée, serait responsable d'une hyperleptinémie et d'une hyperinsulinémie observées dans le diabète de type 2. L'hyperleptinémie mesurée chez les obèses pourrait rendre les cellules β plus susceptibles aux effets délétères de la glucotoxicité et conduire à l'apoptose cellulaire (Eldor et al., 2006).

L'adiponectine augmente l'insulino-sensibilité mais son mécanisme d'action n'est pas encore élucidé bien que les îlots pancréatiques expriment les récepteurs 1 et 2 de l'adiponectine (Staiger et al., 2005).

Le TNF- α et l'adiponectine peuvent contrecarrer leur mécanisme d'action : ils exercent des effets opposés sur la signalisation de l'insuline : le TNF- α diminue et l'adiponectine augmente la phosphorylation des tyrosines kinases des récepteurs de l'insuline (Stefan et al., 2002). De plus, le taux élevé de TNF- α peut aboutir à une baisse de la synthèse de l'adiponectine, car le premier freine la synthèse du dernier (Ruan et al., 2004).

II.2. Dyslipidémie

Les sujets obèses sont fréquemment caractérisés par un état de dyslipidémie, dans lequel les triglycérides plasmatiques sont augmentés, les concentrations de HDL cholestérol abaissées, et celles des lipoprotéines de basse densité apo-B (LDL-apo-B) augmentées.

On observe très souvent ce profil métabolique chez les sujets qui présentent une forte accumulation de graisse intra-abdominale, profil qui a régulièrement été associé à un risque accru de cardiopathie coronarienne (Carr et al., 2004).

II.3. Hypertension

L'obésité, surtout de type viscéral, est fortement associée à l'hypertension artérielle. Cette association a été bien documentée dans différents groupes ethniques et socioéconomiques.

Bien que l'importance de l'obésité comme cause d'hypertension soit bien établie, les bases moléculaires de la relation entre obésité et hypertension artérielle restent peu comprises. Le mécanisme central semble être une augmentation de la réabsorption tubulaire de sodium. Les facteurs stimulants cette réabsorption sont d'une part l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone et, d'autre part, l'activation du système nerveux sympathique principalement due à une stimulation centrale par la leptine et par l'hyperinsulinémie (Engeli et al., 2001).

II.4. Syndrome métabolique

L'association fréquente de l'obésité avec d'autres facteurs de risque de maladie cardio-vasculaire est bien établie. On a donné à ce groupe de facteurs plusieurs noms, notamment syndrome X et syndrome de résistance à l'insuline, mais on préfère parler aujourd'hui de syndrome métabolique. Il n'y a pas de définition internationale de ce syndrome, mais, sur le plan pratique, il se définit par la présence d'au moins deux des symptômes suivants : obésité abdominale, hypertension artérielle, dyslipidémie (hypertriglycéridémie, hypoHDL-cholestérolémie), intolérance au glucose avec insulino-résistance (Weiss et al., 2004).

Ces facteurs de risque font actuellement l'unanimité, mais la liste devrait continuer de s'allonger au fur et à mesure que se poursuivront les recherches, ce qui pourrait, avec le temps, modifier la définition même du syndrome métabolique. Par exemple, l'inflammation, telle que mesurée par la présence de la protéine C-réactive, pourrait bientôt en faire partie (Doelle et al., 2004).

Chez l'adulte, la présence d'un syndrome métabolique augmente fortement le risque de survenue d'un accident cardiovasculaire. Chez l'enfant, la quantification de ce risque est à ce jour difficile en raison de l'absence d'études épidémiologiques sur la survenue des événements cardiovasculaires majeurs. Cependant, il existe une relation maintenant établie entre obésité dans l'enfance et risque cardiovasculaire à l'âge adulte, indépendamment de l'évolution pondérale. De plus, certaines études ont montré qu'il existait déjà chez l'enfant obèse des troubles de la mécanique artérielle et de la fonction endothéliale qui pourraient être les premières manifestations d'une maladie vasculaire qui s'exprimera à l'âge adulte (Tounian et al., 2001).

III. Obésité, système immunitaire et stress oxydatif

III.1. Système immunitaire

L'immunologie s'est intéressée pendant longtemps presque exclusivement aux mécanismes de défense anti-infectieuse mais, progressivement, on s'est rendu compte de l'importance de la réponse immunitaire dans la plupart des grandes maladies humaines, comme l'allergie, les maladies néoplasiques et surtout les maladies inflammatoires et auto-immunes (Sibilia et al., 2006).

III.1.1. Cellules du système immunitaire

Le système immunitaire protège l'organisme contre les infections. Cette tâche est accomplie grâce à l'action concertée de différents types cellulaires employant différents mécanismes. On distingue trois types cellulaires majeurs impliqués de manière active dans le système immunitaire: les lymphocytes T, les lymphocytes B et les phagocytes. Les lymphocytes sont impliqués dans les mécanismes de défenses spécifiques tandis que les phagocytes se partagent les défenses innées (Goldsby et al., 2003).

Toutes les cellules du système immunitaire sont originaires de cellules souches hématopoïétiques (cellules présentes dans la moelle osseuse). Ces cellules souches peuvent se différencier en cellules progénitrices, qui donneront ensuite naissance à différents types cellulaires. Les progénitrices lymphoïdes donnent naissance aux lymphocytes et aux cellules NK, alors que les progénitrices myéloïdes sont les précurseurs des granulocytes, des macrophages, des cellules dendritiques et des mastocytes du système immunitaire (Figure 2) (Janeway et al., 2001).

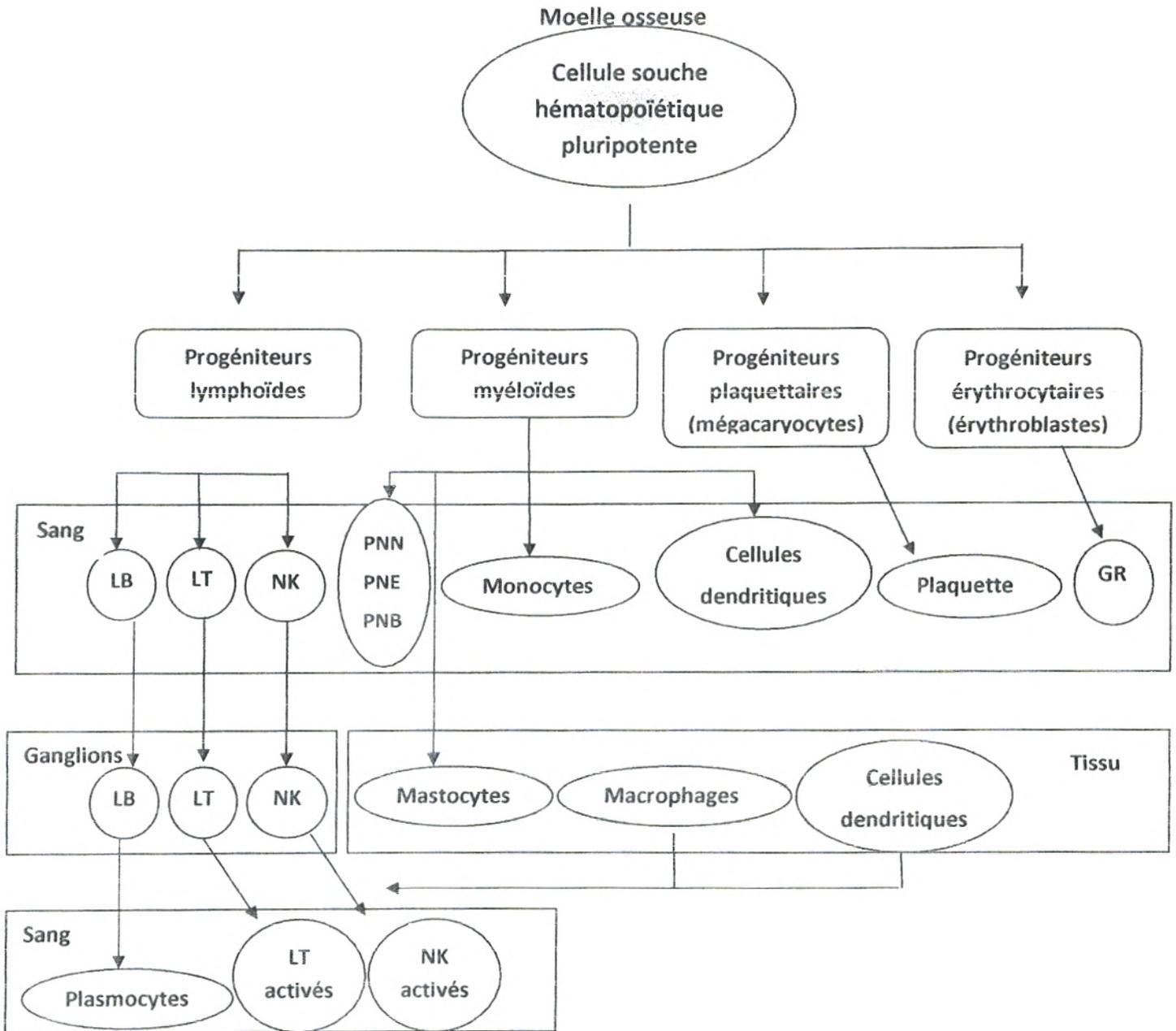
III.1.1.1. Cellules phagocytaires

On a longtemps cru que les polynucléaires neutrophiles et les monocytes, considérés comme des phagocytes professionnels, avait pour seul rôle d'assumer la défense de l'hôte envers l'agent infectieux par cette fonction qu'ils partagent, la phagocytose. Or, il est devenu clair aujourd'hui que les rôles de ces cellules débordent largement les limites de la phagocytose et la détoxification qui leur avaient été assignées à l'origine.

Par leur capacité à apprêter l'antigène et à synthétiser des cytokines essentielles à l'initiation de la réponse immune, les monocytes et les macrophages jouent un rôle déterminant dans la présentation de l'antigène et dans l'activation des cellules T (Witko et al., 2000).

III.1.1.2. Cellules lymphoïdes

On distingue deux familles principales de cellules lymphoïdes : les lymphocytes issus de cellules souches originaires de la moelle osseuse mais dont la maturation dépend du thymus, d'où le terme de lymphocytes « T », et les lymphocytes qui se différencient en dehors du thymus, dans la bourse de Fabricius chez les oiseaux et dans la moelle osseuse chez les mammifères, dénommés lymphocytes « B ».



LT : lymphocytes T

LB : lymphocytes B

NK : cellules naturel killer

GR : globules rouges

PNN : polynucléaires neutrophiles

PNE : polynucléaires éosinophiles

PNB : polynucléaires basophiles

Figure 2 : Origine des différentes cellules hématopoïétiques et des cellules de l'immunité (Sibilia et al., 2006).

Les lymphocytes T et B quittent les organes lymphoïdes primaires par la circulation sanguine, et colonisent les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions lymphatiques, etc.). En absence d'activation les cellules recirculent au sein des organes lymphoïdes primaires et leur durée de vie peut varier en fonction de la rencontre avec l'antigène ou de la compétition pour l'espace avec d'autres lymphocytes natifs (Figure 3) (Sibilia et al., 2006).

a)- Lymphocytes B

Les caractéristiques essentielles du lymphocyte B sont la présence d'un récepteur membranaire, le BCR, une immunoglobuline (Ig) de surface, qui reconnaît un antigène différent dans chaque cellule. Lorsqu'une cellule B native, qui n'a jamais rencontré d'antigène, rencontre pour la première fois l'antigène pour lequel son récepteur est spécifique, la liaison BCR-antigène initie la division rapide de la cellule. Sa progéniture se différencie en cellules B mémoires et cellules B effectrices, également appelées plasmocytes (Tangye et al., 2006).

Les cellules B mémoires ont une plus longue durée de vie que les cellules natives et continuent à exprimer le même anticorps de surface (BCR) que la cellule native dont elles sont issues. Lors d'une exposition à l'antigène, les cellules B mémoires prolifèrent et se différencient en plasmocytes. Les cellules effectrices n'expriment plus d'anticorps de surface mais produisent l'anticorps sous une forme pouvant être sécrétée. Bien que ces cellules ne vivent que quelques jours, elles arrivent à sécréter d'énormes quantités d'anticorps durant cette période et ces anticorps sont les molécules effectrices principales de l'immunité humorale puisqu'elles lient l'antigène pour le neutraliser ou faciliter son élimination (Woodland et al., 2005).

b)- Lymphocytes T

Les lymphocytes T matures sont subdivisés en populations ayant des fonctions distinctes, les mieux définies étant les lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques. Ces populations expriment différentes protéines membranaires qui servent de marqueurs phénotypiques. C'est ainsi que la plupart des cellules T auxiliaires expriment une protéine de surface nommée CD4 alors que la majorité des cellules T cytotoxiques expriment le marqueur CD8.

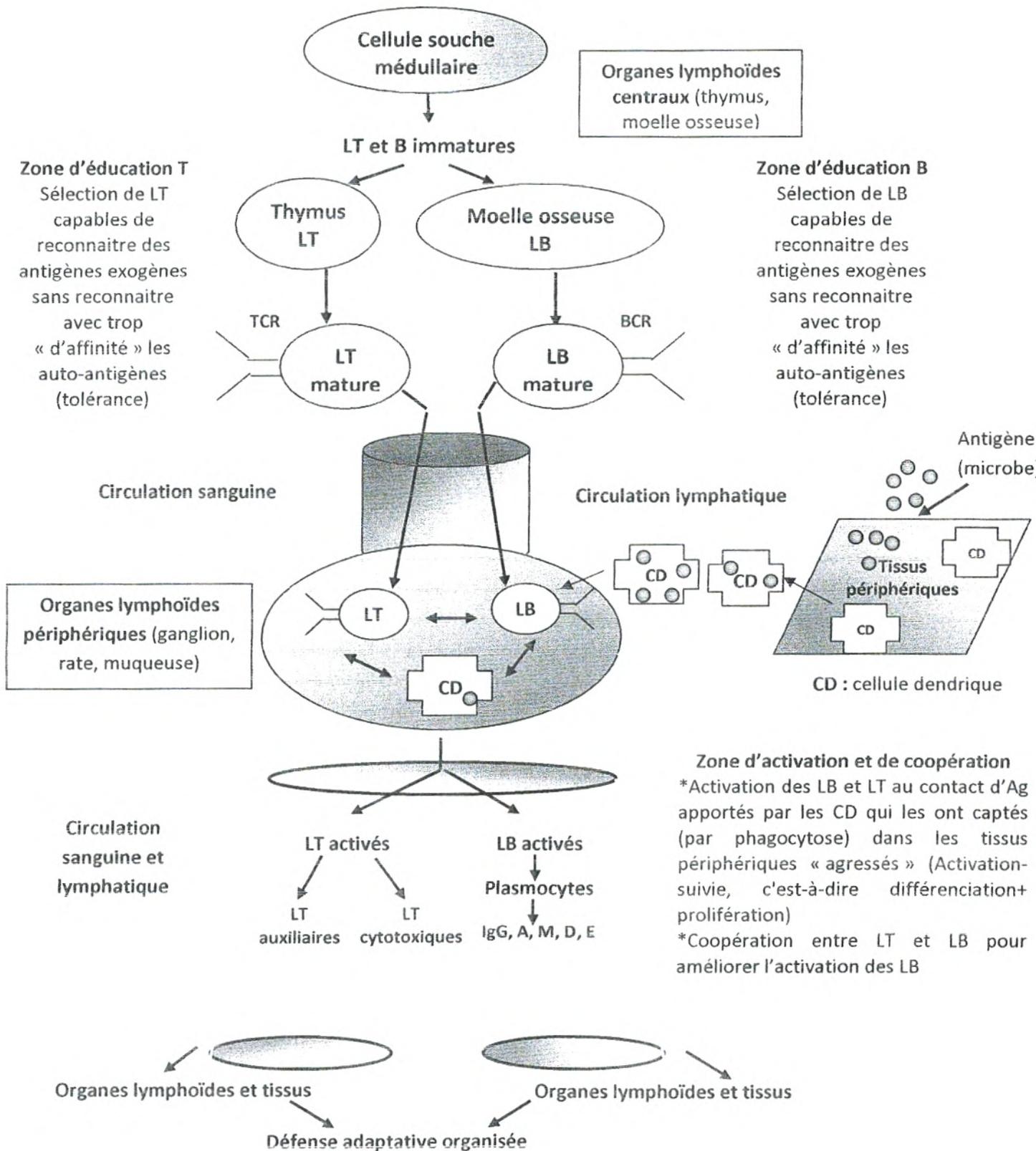


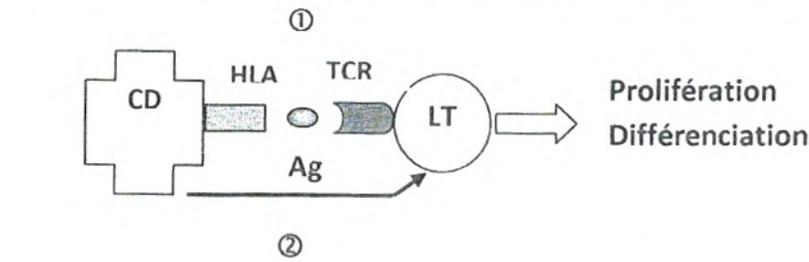
Figure 3 : Activation des lymphocytes T et B (Sibilia et al., 2006).

Les lymphocytes T cytotoxiques ou tueurs ou Killer Cells (TK) attaquent et détruisent directement les cellules étrangères ou anormales, sans passer par l'intermédiaire d'anticorps ; alors que les lymphocytes T auxiliaires ou Helpers (TH) amplifient la réponse immunitaire en régulant l'activité des autres cellules du système immunitaire (y compris les lymphocytes B et les macrophages) (Ferrant, 2001).

Les lymphocytes T initient l'immunité spécifique à médiation cellulaire et humorale en reconnaissant des portions d'antigènes protéiques (peptides) liés à des molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) à la surface d'autres cellules. Il existe deux types de molécules du CMH, le CMH de classe I, exprimé par pratiquement toute cellule nucléée, et le CMH de classe II, dont l'expression est restreinte aux cellules présentatrices d'antigènes incluant les macrophages, les lymphocytes B et les cellules dendritiques. Les lymphocytes T auxiliaires (CD4+) reconnaissent un peptide en association avec une molécule du CMH de classe II alors que les cellules T cytotoxiques reconnaissent un peptide complexé à une molécule du CMH de classe I (Janeway et al., 2001).

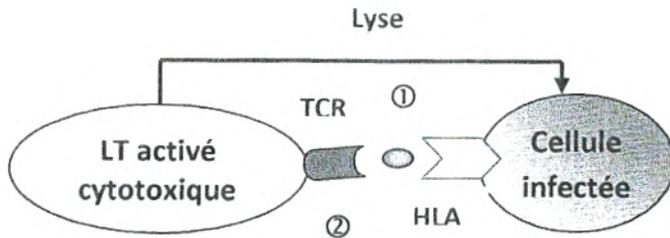
Le récepteur à la surface des lymphocytes T (T cell receptor ou TCR) est responsable de la reconnaissance spécifique d'un antigène étranger lorsqu'il lui est présenté à la surface d'une autre cellule en complexe avec les molécules du CMH. L'interaction entre le TCR et le complexe antigène/CMH initie une cascade de signalisation qui induit une réaction spécifique contre l'antigène reconnu (Choudhuri et al., 2005).

Les lymphocytes T et B coopèrent de façon continue pour assurer la défense de l'organisme. La première étape implique l'internalisation de l'antigène par le récepteur spécifique qu'est l'immunoglobuline de surface. Suite à cette internalisation, l'antigène va être dégradé sous forme de peptides et présentés aux lymphocytes T spécifiques par les molécules d'histocompatibilité de classe II exprimées à la surface de la cellule présentatrice d'antigène. De leur côté, les lymphocytes T auxiliaires spécifiques sont activés par l'antigène présenté sous forme de peptides et attirés par les lymphocytes B (figure 4) (Sakaguchi, 2000).



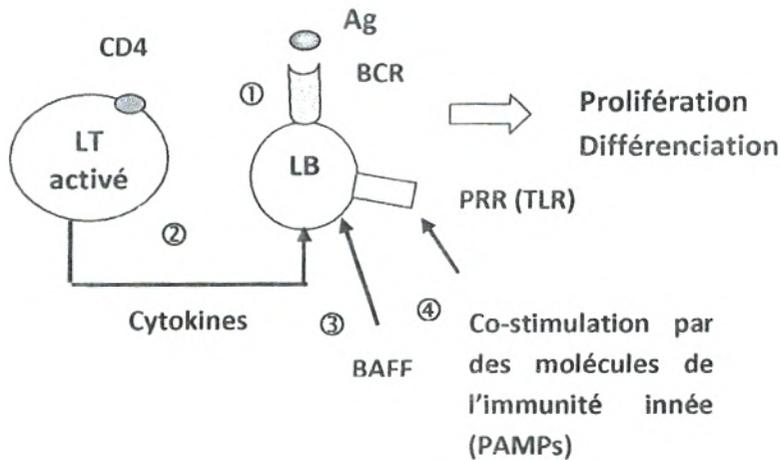
L'activation des LT :

- ① 1^{er} signal : reconnaissance de l'antigène par le TCR du LT
- ② 2^{ème} signal : co-stimulation par différentes voies (CD40/CD 40 ligand et CD 28 (CTLA- 4)/B7)



L'activation des LT cytotoxiques

- ① 1^{er} signal : reconnaissance de l'antigène présenté par une molécule HLA (le plus souvent de classe 1) par le TCR
- ② Des signaux de co-stimulation ne sont pas nécessaires car ces cellules sont programmées pour détruire les cellules infectées



L'activation des lymphocytes B

- ① 1^{er} signal : reconnaissance de l'antigène par le BCR du LB
- ② 2^{ème} signal : co-stimulation par un LT activé par les différentes voies (CD40/CD 40 ligand et CD 28 (CTLA-4)/B7)
- ③ Signal cytokinique : BAFF (BLyS) est un signal cytokinique original (produit par des CD et des monocytes) capables d'activer un LB, indépendamment de 1^{er} signal antigénique via le BCR
- ④ Signal de co-stimulation par les différentes molécules de l'immunité innée (PAMPs), notamment via les récepteurs appelés PRR (comme les TLR)

CPA : cellule présentatrice de l'antigène (cellule dendritique, macrophage, LB)

BCR : récepteur à antigène du LB

PAMPs : pathogen-associated molecular patterns

TCR : récepteur à antigène du LT

PRRs : pattern recognition receptors

TLR : Toll-like receptor

Figure 4 : Coopération des lymphocytes T et B (Sibilia et al., 2006).

III.1.2. Système HLA

A la différence des lymphocytes B qui reconnaissent par l'intermédiaire de leur récepteur immunoglobulinique des protéines solubles, les lymphocytes T ne reconnaissent que de courts peptides antigéniques présentés par des molécules spécialisées à la surface cellulaire. Ces molécules sont les produits de gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), ou du système HLA (human leukocyte antigen).

La génétique de la région CMH est complexe, en particulier parce qu'elle regroupe de nombreux gènes (environ 100 gènes). Le CMH est subdivisé en 3 régions, dont les gènes codent pour des produits qui diffèrent par leurs localisation, leurs structure et leurs fonction (Bach et al., 2002).

- Le CMH de classe I comprend des gènes codant pour des protéines du CMH de classe I. Ces antigènes du CMH1 sont exprimés par la quasi-totalité des cellules de l'organisme à l'exception des érythrocytes. Ils présentent les épitopes issus d'antigènes cytoplasmiques aux lymphocytes T CD8 (Lutfalla et al., 2003).

- le CMH de classe II comprend des gènes codant pour des protéines du CMH de classe II. Ces antigènes du CMH2 sont exprimés qu'à la surface des cellules dites présentatrices d'antigène (CPA), c'est-à-dire les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques ainsi qu'à la surface des lymphocytes T et B. Ils présentent les épitopes issus d'antigènes captés dans le microenvironnement cellulaire aux lymphocytes T CD4 (Benaroch, 2007).

- le CMH de classe III comprend un ensemble de gènes codant pour des facteurs de l'immunité non spécifique et spécifique (facteurs du complément, TNF..). On trouve dans cette région, en plus des ensembles définis initialement, plusieurs gènes codant pour des protéines intervenant dans la présentation des antigènes et sa régulation (TAP= protéines de transport des peptides, CMH-I like proteins et CMH-II like proteins) (Bach et al., 2002).

III.1.3. Les cytokines

III.1.3.1. Définition

Les réponses immunitaires résultent de la coopération entre sous populations cellulaires distinctes (lymphocytes T, lymphocytes B, macrophage...) qui communiquent entre elles par

l'intermédiaire de récepteurs membranaires et d'un réseau constitué de facteurs solubles appelés « cytokines » (Foster et al., 2006).

Les cytokines, également connues sous le nom de facteurs d'immunisation, sont des protéines produites naturellement par les cellules et les organes du système immunitaire humain. Les différents rôles que les cytokines jouent auprès du système immunitaire font d'elles un candidat idéal pour soutenir les immuno-réactions. Elles modulent les capacités fonctionnelles de nombreux types cellulaires et jouent un rôle essentiel au cours du développement de la réponse immune en contrôlant l'activation, la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules T et B (Goldsby et al., 2003).

La diversité d'origine des cytokines a tout d'abord posé un problème de terminologie. Le terme de « lymphokine » s'appliquait initialement aux facteurs produits par les lymphocytes et celui de « monokines » désignait les facteurs produits par les macrophages ou les monocytes. Puis le mot « interleukine » est apparu pour regrouper les lymphokines ou les monokines ayant pour cellules cibles d'autres leucocytes. C'est dans ce contexte qu'a été proposé le terme le plus général de « cytokines » qui tient le mieux compte de la réalité biologique.

III.1.3.2. Cellules productrices de cytokines

Les lymphocytes T sont les principales cellules productrices de cytokines. Leur production est induite après stimulation en présence d'antigènes ou de mitogènes (concanavaleine A, phytohématagglutinine). S'il est clairement établi que les lymphocytes T, et surtout les CD4+, représentent la source principale de cytokines, les sous populations T impliquées dans ce phénomène sont diverses et semblent varier en fonction du stimulus.

On distingue deux sous populations de lymphocytes T auxiliaires (helper ou Th) qui se différencient par les cytokines qu'elles sécrètent :

Les cellules Th1 qui produisent avant tout une interleukine : l'IL-2 et l'interféron gamma (INF). Ce type de cellule est responsable de l'immunité à médiation cellulaire : elles activent les monocytes et les macrophages et sont donc considérées comme pro-inflammatoires. En revanche, les cellules Th2 qui sécrètent les IL-4, IL-10 et IL-13, activent la prolifération et la différenciation des lymphocytes B, d'où leurs rôles clés dans l'immunité humorale (Dong et al., 2001).

Les cellules T CD8 sont également capables de produire des cytokines bien qu'en quantité plus faible que les lymphocytes CD4. Les cytokines produites par les lymphocytes CD8 agissent souvent de manière autocrine.

Les lymphocytes B produisent aussi un certain nombre de cytokines tel que l'IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, et IL-16. Dans ce cas, l'agent stimulant peut être un antigène ou un mitogène tel que les lipopolysaccharides (LPS). Au cours d'une réponse immunitaire, la production de cytokines par d'autres types cellulaires que les lymphocytes et notamment les cellules présentatrices d'antigène, joue également un rôle tout à fait capital. Les macrophages et les cellules dendritiques constituent en effet une source importante de cytokines. Ils sont les principaux producteurs d'IL12. Ils produisent également de l'IL-1, de l'IL-6, du TNF α , et de l'IL-8 (Sibilia et al., 2006).

III.1.3.3. Propriétés principales des cytokines

Les principales cytokines aujourd'hui connues sont les interleukines (répertoriées de IL-1 à IL-15), les interférons (IFN α , β et γ), les facteurs de croissance hématopoïétiques (les "CSF"), et les facteurs de nécrose des tumeurs (TNF α et TNF β) (Goldsby et al., 2003).

a. Interleukine 1 (IL-1)

L'interleukine 1 a été également appelée LAF (leucocyte activating factor). L'IL-1 est libérée surtout par les macrophages mais aussi par d'autres cellules, lymphocytes B, lymphocytes T et cellules endothéliales. Elle est douée de multiples activités biologiques qui en font un médiateur central non seulement de l'immunité mais également de l'inflammation. Elle agit sur l'activation des cellules lymphocytaires (T, B et NK), l'activation des cellules monocytaires et macrophagiques, des cellules endothéliales et la prolifération de divers autres types cellulaires (fibroblastes, cellules musculaires) (Dinarello, 2000).

b. Interleukine 2 (IL-2)

L'IL-2 a été appelée initialement TCGF (T cell growth factor) parce qu'elle entraîne une maturation et une prolifération des lymphocytes T. Elle est sécrétée essentiellement par les lymphocytes T de type CD4⁺ stimulés par les antigènes présentés par les macrophages et par l'IL-1. L'IL-2 active les récepteurs situés sur la membrane de diverses cellules, lymphocytes T et lymphocytes NK, lymphocytes B activés (Ferrant, 2001). Elle active la transformation des lymphocytes en T cytotoxiques

de type CD8⁺ qui sécrète l'interféron gamma, lequel stimule les macrophages à libérer le TNF α . Elle stimule aussi la croissance et l'activité cytolytique des cellules NK (natural killer), la maturation des lymphocytes B et la synthèse d'anticorps (Becknell et al., 2005).

c. Interleukine 4 (IL-4)

L'IL-4 est une cytokine essentielle dans la prolifération et surtout la différenciation de certaines sous populations de lymphocytes T à savoir les cellules CD4⁺ de type TH2. Elle agit également comme un facteur de croissance des cellules B et active la prolifération des lymphocytes NK ((Sibilia et al., 2006).

d. Interleukine 5 (IL-5)

Cette cytokine stimule la croissance, la différenciation et l'activité des éosinophiles qui jouent un rôle important dans la lutte contre les infections parasitaires, et elle favorise également la différenciation des lymphocytes B et la synthèse d'anticorps de différentes classes (Becknell et al., 2005).

e. Interleukine 6 (IL-6)

L'IL-6, aussi appelée "hepatocyte stimulating factor " ou "B cell stimulating factor", est une glycoprotéine produite par de nombreuses cellules (les cellules T et B, fibroblastes, cellules endothéliales, monocytes) et de nombreux tissus, dont le tissu adipeux (Bastard et al., 2002).

Cette cytokine stimule la croissance et la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes et augmente la génération des plaquettes. Elle provoque, par activation des hépatocytes, la sécrétion des protéines de l'inflammation comme le fibrinogène et la protéine C réactive. Elle a un rôle pro-inflammatoire. L'IL-6 est aussi impliquée dans l'activation des lymphocytes T et leur différenciation en cellules cytotoxiques. Il s'agit également d'un facteur hématopoïétique qui stimule, en synergie avec les IL-3, la prolifération des cellules souches multipotentes (Matsuda et al., 2000).

f. Interleukine 10 (IL-10)

L'IL-10 est une cytokine produite par les cellules TH2 qui inhibe la production des cytokines en particulier, l'IFN par les cellules TH1 activées, en diminuant la capacité de ces cellules à présenter l'antigène sans doute en diminuant l'expression des antigènes d'histocompatibilité de classe II.

L'IL-10 est également produite par les cellules B, sur lesquels elle joue un rôle autocrine de régulation de la production des cytokines (De Lorenzo et al., 2007).

g. Facteurs de nécrose des tumeurs (TNF α et TNF β)

Le TNF α (ou cachectine) est comme l'IL-1 et l'IL-6, produit par de très nombreux types cellulaires dont les monocytes, les macrophages, les cellules musculaires et les cellules adipeuses alors que le TNF β (ou lymphotoxine α) est exclusivement produit par les lymphocytes T (Aggarwal et al., 2000).

L'activité majeure de TNF, est comme son nom l'indique, est celle de provoquer la lyse, par nécrose ou par apoptose, de cellules tumorales. Le TNF est une cytokine qui partage avec l'IL-1 et l'IL-6 plusieurs de leurs actions pro-inflammatoires. L'activité cachectisante de TNF s'explique par son action directe sur les adipocytes en inhibant la lipoprotéine lipase ((Sibilia et al., 2006).

h. Interférons

Les interférons sont des protéines douées d'activité antivirale et de propriétés immunomodulatrices et antitumorales. L'IFN γ active les macrophages et augmente l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, stimulant donc la reconnaissance des antigènes par les T cytotoxiques (Dong et al., 2001).

i. Cytokines de l'hématopoïèse

Les facteurs de croissance hématopoïétiques (GM-CSF, G-CSF, M-CSF), d'origine principalement fibroblastique et endothéliale, stimulent la multiplication et la différenciation des lignées conduisant aux granulocytes et aux monocytes/macrophages. L'IL-3 est, quant à elle, un facteur de croissance hématopoïétique à "large spectre", produit par les cellules T (Cumano et al., 2006).

III.1.4. Système immunitaire et obésité

La connaissance du lien étroit unissant le statut immunitaire au statut nutritionnel a considérablement évolué en quelques décennies. La mise en évidence de l'immunodéficience secondaire à une malnutrition globale a ouvert la porte à l'identification de micronutriments essentiels à l'acquisition et au maintien de l'immunocompétence. Les progrès en immunologie ont permis de décrire les aspects fonctionnels de la réponse immunitaire susceptibles d'être altérés par des déficits nutritionnels, majeurs, modérés ou marginaux (Calder, 2001).

Les modifications du système immunitaire au cours de l'obésité ont été largement documentées. La plupart des défenses de l'hôte sont affectées par une malnutrition, en particulier l'immunité à médiation cellulaire, la production de cytokines, la réponse sécrétoire IgA, la fonction phagocytaire et le système du complément (Chandra et al., 2002).

L'altération de la réponse immunitaire à médiation cellulaire repose en premier lieu sur l'atrophie des organes lymphoïdes, extrêmement sensibles à la dénutrition (Calder, 2001).

La malnutrition entraîne une involution du thymus, avec pour conséquences une diminution de la production de lymphocytes T matures rejoignant les organes lymphoïdes périphériques. La différenciation des lymphocytes T en leurs deux sous-populations les lymphocytes T helpers ou auxiliaires et les lymphocytes T effecteurs cytotoxiques est perturbée, avec un ratio helper/cytotoxiques significativement diminué. L'atrophie touche également les organes périphériques, avec altération des réponses T-cellulaires (Chandra et al., 2002).

La coopération entre lymphocytes T et lymphocytes B est affectée par la déplétion en lymphocytes T helpers (Th) et leurs altérations fonctionnelles, notamment la production de cytokines immunomodulatrices. Il en résulte une diminution de la réponse anticorps aux antigènes, particulièrement marquée pour la production d'IgA sécrétoires, et une diminution de l'affinité des anticorps pour les antigènes, ce qui réduit leur efficacité (Prasad, 2002).

La réponse non spécifique ou innée est également affectée par la malnutrition. En particulier, la phagocytose des micro-organismes par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles est altérée du fait du déficit en certaines protéines du complément, système activateur de la phagocytose (Chandra et al., 2002).

L'obésité est caractérisée par une altération majeure de la morphologie et de la fonction sécrétoire du tissu adipeux qui produit alors de nombreuses molécules dont la leptine, l'adiponectine, des facteurs de la phase aiguë comme la C-reactive protein (CRP) et des cytokines inflammatoires comme le TNF- α et l'IL-6 (Bastard, 2004).

Celles-ci, produites directement par les adipocytes ou par les macrophages infiltrant le tissu adipeux, induisent un état inflammatoire chronique de faible intensité, qui pourrait jouer un rôle central, à la fois dans les complications cardiovasculaires de l'obésité et dans l'insulinorésistance, facteur de risque de diabète de type 2 (Fève et al., 2006).

La leptine, impliquée dans la régulation de l'obésité, en modifiant le métabolisme lipidique, diminue l'appétit en interférant avec le neuropeptide Y et le récepteur de la mélanocortine dans l'hypothalamus. La leptine est élevée chez les sujets obèses et elle exerce un effet agrégeant sur les plaquettes, et par conséquent, elle pourrait moduler le système immunitaire (Guerre-Maillo, 2002).

Les récepteurs de la leptine ont été récemment identifiés sur les lymphocytes murins. Ces récepteurs inhibent l'apoptose cellulaire T et favorisent la survie des cellules T. En ce qui concerne la différenciation cellulaire T, la leptine induit la polarisation de cellules Th vers le phénotype Th1 et augmente la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Une étude effectuée sur les enfants obèses indique une corrélation positive entre le pourcentage de cellules T sécrétant l'IFN- γ , la concentration de leptine et l'insulino-résistance. Il est clair que la leptine exerce une action pro-inflammatoire en ce qui concerne la différenciation de cellules Th (Pacifico et al., 2006).

En ce qui concerne l'adiponectine, nous ne disposons pas d'étude directe qui démontre son action sur la différenciation de ces cellules, mais il a été démontré que l'inflammation hépatique induite par l'activation des cellules T est associée à une baisse du taux de l'adiponectine, suggérant que cette adipokine pourrait exercer un effet anti-inflammatoire (Morris et al., 2006).

Les adipocytes des sujets obèses sécrètent plus de TNF- α et le taux des ARNm du TNF- α diminue après une baisse de poids chez les sujets obèses (Eldor et al., 2006). En effet, chez les sujets obèses, un régime peu calorique diminue non seulement la masse grasseuse mais également l'expression des gènes de cytokines pro-inflammatoires dans des adipocytes. Ce régime augmente aussi l'expression des gènes, codant pour les agents anti-inflammatoires.

Il faut rappeler qu'une croissance soutenue de tissu adipeux aboutit au développement de syndrome métabolique marqué par le diabète de type 2, l'hypertension et l'état inflammatoire. L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) constitue l'un des facteurs impliqués dans ce processus. En effet, il a été suggéré que le TNF- α sécrété par les adipocytes est responsable de l'augmentation de la concentration plasmatique de PAI-1, puis de complications cardio-vasculaires (Samad et al., 1999).

L'IL-6, une cytokine pro-inflammatoire, semble également être impliqué dans la pathogenèse du diabète de type 2, de l'obésité ou bien des anomalies lipidiques. Il est intéressant de noter qu'entre 10 et 30 % de l'IL-6 circulant est dérivé du tissu adipeux, ce qui suggère son rôle probable dans les pathologies métaboliques (Eldor et al., 2006 ; Bastard et al., 2002).

L'IL-6 stimule la production hépatique de CRP (Protéine C réactive) (Ford et al., 2003). Cette observation est à rapprocher de l'élévation du contenu en IL-6 dans le tissu adipeux des individus obèses présentant une CRP élevée. Par ailleurs, une valeur augmentée de CRP chez un individu obèse majore d'au moins deux fois le risque de survenue d'un diabète de type 2 dans les trois ou quatre ans (Barzilay et al., 2001).

III.2. Stress oxydatif

III.2.1. Définition et origine

Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre (Curtin et al., 2002).

Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « *stress oxydant* » (Favier, 2003).

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies / reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation (Roussel et al., 2000).

Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant, soit couplant la défense à l'énergie, soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (Favier, 2003).

Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par divers altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN, des protéines, la perturbation de l'homéostasie du calcium intracellulaire ou encore la peroxydation lipidique (Cook et al., 2003).

III.2.2. Principaux radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003). Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) (Yoshikawa et al., 2000).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène dont la plupart dérivent de l'activité mitochondriale (figure 5) (Pincemail et al., 1999).

La réactivité des radicaux est très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) comme le monoxyde d'azote ($^{\bullet}NO$) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. La faible réactivité de ces deux radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telles la vasodilatation capillaire, la prolifération ou le message de neurones (Wolin et al., 2005).

En revanche, des radicaux comme les radicaux peroxyles (ROO^{\bullet}) ou surtout le radical hydroxyle (HO^{\bullet}) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques ; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (Favier, 2003).

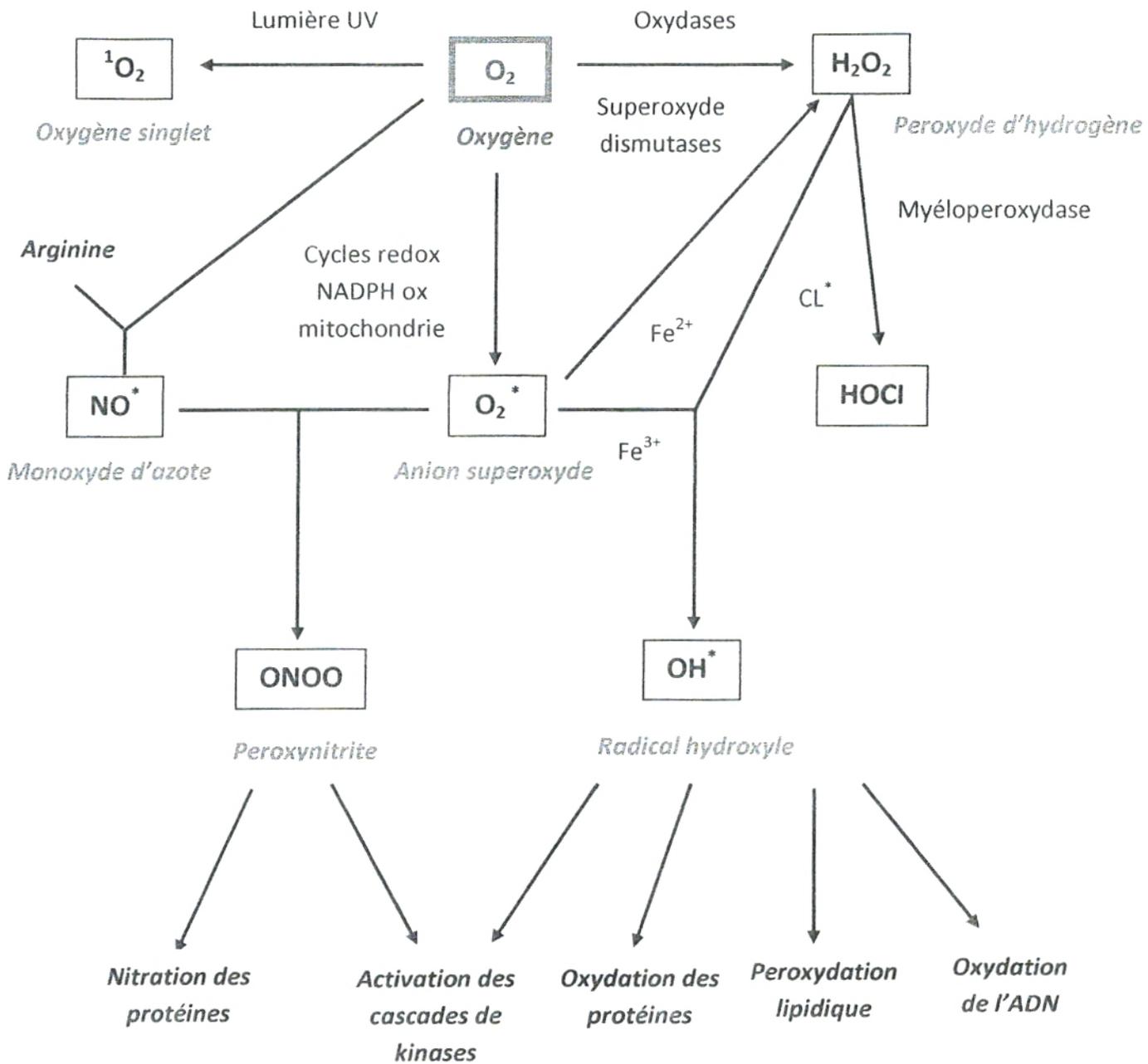


Figure 5 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

III.2.3. Principaux antioxydants

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (Delattre et al., 2003).

La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases (Carr et al., 2000).

Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO• (Gardès-Albert et al., 2005).

D'autres composés endogènes jouent aussi un rôle important: les thioredoxines, les glutaredoxines, les métallothionéines, l'acide lipoïque ou les polyamines (Hattori et al., 2003).

L'autre stratégie utilisée est de nature enzymatique, visant à détruire les superoxydes et les peroxydes. Ainsi, les superoxydes dismutases (SOD) sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, formant avec deux superoxydes une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Les superoxydes dismutases existent sous plusieurs isoformes dont la structure d'ensemble forment un puit hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde (Zelko et al., 2002).

Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (Kaymer et al., 2005).

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer, présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, et les glutathions peroxydases à cofacteur sélénium (Roussel et al., 2000).

Des glutathions peroxydases à sélénium existent dans le cytosol (cGPx) dans le plasma (pGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et une isoenzyme est spécifique des cellules digestives (GIGPx). Ces enzymes sont sans doute le principal système de protection car elles détruisent non seulement H₂O₂, mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol. L'activité de ces enzymes est très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium (Wolters et al., 2005).

Le rôle des SOD et des peroxydases est complémentaire car une bonne protection ne peut être obtenue par les superoxydes dismutases seules (figure 6) (Favier, 2003).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases ou les thioredoxines peroxydases. La plupart des enzymes décrites ci-dessus, de même que les enzymes de réparation des dommages oxydants, vont utiliser un donneur d'équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante (Reichheld et al., 2005).

III.2.4. Marqueurs du stress oxydatif

Plusieurs techniques innovatrices ont été développées dans la dernière décennie pour tenter de mesurer la capacité antioxydante globale d'un tissu plutôt que de quantifier les concentrations individuelles de chacune des molécules antioxydantes individuellement. Ce test consiste à évaluer la capacité que possède le sang complet ou le plasma à inhiber la production d'EOA générées par un système *in vitro*. Il s'agit donc d'une méthode de screening qui est la sommation des activités individuelles de chaque antioxydant présent dans ces milieux biologiques (Curtin et al., 2002).

Il existe plusieurs tests, tel que l'ORAC (oxygen radical absorbance capacity) la FRCP (ferric reducing capacity power), et la TEAC (trolox equivalent absorbance capacity) qui se différencient par le système producteur d'EOA, la cible biologique à oxyder et le système de détection (Cao et al., 1998).

Les espèces oxygénées activées (EOA) réagissent avec toute une série de substrats biologiques comme les protéines, les lipides ou l'acide désoxyribonucléique (ADN). La mise en évidence de dérivés d'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant.

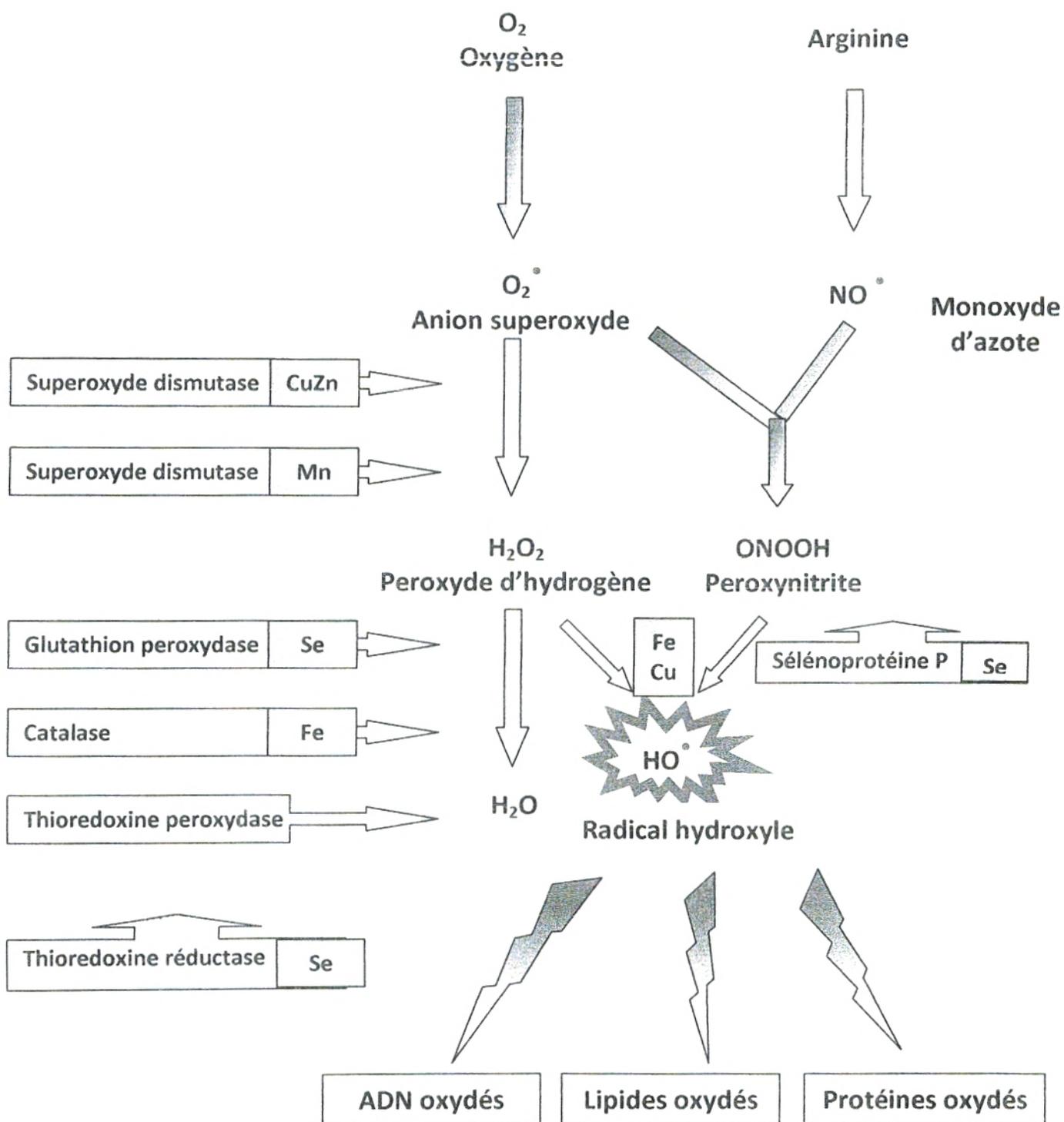


Figure 6 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

Les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires sont la cible principale des espèces oxygénées activées (EOA). Il en résulte la formation de peroxydes lipidiques (LPO) qui peuvent se mesurer dans le plasma ou le sang total avec certaines limites de sensibilité et de spécificité (Meagher et al., 2000).

Les peroxydes lipidiques se décomposent toutefois en sous produits comme le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal, l'éthane ou le pentane. Pendant de nombreuses années, la détermination du MDA par l'acide thiobarbiturique (TBARS méthode) a été utilisée pour évaluer *in vivo* la présence d'une peroxydation lipidique (Curtin et al., 2002).

Les acides gras polyinsaturés sont aussi les constituants essentiels des LDL (« low density lipoproteins »). L'oxydation des LDL est un processus particulièrement important dans le processus du développement de l'athérosclérose. De façon générale, les patients à haut risque de développer des accidents cardiovasculaires (hypertension, hypercholestérolémie, obésité, dialysés rénaux) présentent des taux anormaux en LDL oxydées (Holvoet et al., 1998). La méthode de mesure spectrophotométrique des LDL oxydées basée sur la détermination des diènes conjugués est moins sensible et moins spécifique en comparaison aux méthodes immunologiques récemment développées.

En présence d'espèces oxygénées activées (EOA), les protéines peuvent se dénaturer, se fragmenter ou perdre leurs structures primaires et secondaires. Les dommages oxydatifs au niveau des protéines (et des acides aminés) peuvent se manifester de diverses manières tel que l'apparition de groupements hydroperoxydes (-OOH), l'oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et à l'apparition de groupements carbonyles, et aussi par l'oxydation des chaînes latérales des acides aminés avec formation de ponts disulfure, de méthionine sulfoxyde et de groupements carbonyles. Certains acides aminés (Phe, Tyr, His) subissent un processus d'hydroxylation qui génère la formation d'ortho - et de méta - tyrosine. Lors de l'oxydation de la Tyr, il y a dimérisation de deux radicaux tyrosyl conduisant à la formation de dityrosine (Davies, 1999).

Les espèces oxygénées activées ont une grande affinité de réaction avec certaines bases constitutives de l'ADN. La guanine est ainsi facilement transformée en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN.

Si ces systèmes sont défectueux, la 8-OH-dG s'accumulera au sein de l'ADN causant ainsi des mutations impliquées dans le développement du cancer (Palli et al., 2000).

III. 2.5. Stress oxydatif et obésité

De nombreux travaux ont mis en évidence que le stress oxydatif est impliqué dans plusieurs pathologies, incluant l'obésité (Susuki et al., 2003), le diabète de type 2 (Mouraux et al., 2005), et l'athérosclérose (Stentz et al., 2004).

L'obésité de l'enfant s'accompagne d'une altération du statut oxydant, ce qui peut favoriser le développement des maladies dégénératives qui se manifesteront à l'âge adulte. Certains chercheurs ont observé une augmentation significative des peroxydes lipidiques et des carbonyles protéiques chez les enfants obèses, ce qui témoigne le dommage au niveau cellulaire. De même, ils ont montré une élévation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et un abaissement du contenu du glutathion réduit, ce qui indique une adaptation des défenses anti-radicalaires en réponse à une augmentation de la peroxydation lipidique (Codoner-Franch et al., 2004).

Le stress oxydatif provoque une diminution des défenses immunitaires chez les obèses. Les radicaux libres oxygénés capables de lysér les bactéries phagocytées sont également toxiques pour les lymphocytes et peuvent altérer la réponse immunitaire (De la Fuente et al., 2000). Ainsi, le stress oxydatif modifie l'activité cytotoxique des cellules naturel killer (NK) et la fonction phagocytaire des macrophages et induit une diminution de la prolifération et des fonctions lymphocytaires (Prasad, 2002).

Le stress oxydant systématique augmente avec le degré d'obésité (Suzuki et al., 2003). En effet, l'augmentation du MDA dans le plasma est corrélée avec l'indice de masse corporelle et le tour de hanche (Olusi, 2002). De même, la concentration plasmatique en adiponectine est inversement corrélée aux indicateurs du stress oxydatif (Furukawa et al., 2004).

La production de H₂O₂ est augmentée seulement dans le tissu adipeux des souris obèses et pas dans les autres tissus suggérant que le tissu adipeux est le site principal de production de ROS (Furukawa et al., 2004). L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de la NADPH oxydase diminue la production de ROS dans les tissus adipeux de souris et améliore l'hyperinsulinémie, l'hyperglycémie et l'hypertriglycéridémie ; de même on observe une diminution du TNF alpha et une augmentation de

l'expression d'adiponectine suggérant que la diminution du stress oxydant pourrait améliorer la production de cytokines par le tissu adipeux.

La corrélation entre le stress oxydatif et l'hyperglycémie est bien connue dans le domaine des complications secondaires de l'obésité. Le stress oxydatif représente un mécanisme par lequel l'hyperglycémie aggrave le dysfonctionnement de la cellule bêta aboutissant au diabète de type 2 (Rutter et al., 2008).

De nombreuses études montrent une augmentation des marqueurs de stress oxydatif dans le diabète de type 2, ainsi qu'une diminution des mécanismes de défense vis-à-vis des radicaux libres, associée à une diminution du taux d'acide urique et d'acide ascorbique circulant (Stentz et al., 2004).

Les radicaux libres inhibent la sécrétion d'insuline. Ils interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus sécrétion (Laurent et al., 2008). L'effet sur la fonction des cellules β passe par un effet délétère du stress oxydatif sur la mitochondrie, élément essentiel à l'intégrité du mécanisme d'insulinosécrétion. La cellule β pancréatique est sensible aux radicaux libres du fait de la faible présence intracellulaire de catalase, de glutathion peroxydase et de superoxyde dismutase (Evans et al., 2003).

IV. Effets des acides gras et des lipides alimentaires sur la modulation du système immunitaire

De nombreuses études expérimentales et cliniques réalisées ces deux dernières décennies ont mis en évidence le rôle important que jouent les lipides alimentaires dans le contrôle de la réponse immunitaire. La santé et le bien-être optimaux dépendent d'un apport adéquat d'acides gras essentiels (AGE) dérivés des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (Lecerf, 2000).

A partir des précurseurs, l'organisme est capable de synthétiser des acides gras à longue chaîne par une série de réactions d'élongation et de désaturation. L'élongation est obtenue grâce à des élongases, qui insèrent chaque fois deux atomes de carbones dans la chaîne carbonée de l'acide gras. La désaturation résulte de l'action d'une désaturase. Certaines désaturases sont communes aux animaux et végétaux (Δ -9, Δ -6, Δ -5, Δ -4 désaturases). D'autres sont spécifiques du monde végétal (Δ -12 et Δ -15 désaturases). Ces deux désaturases (Δ -12 et Δ -15 désaturases) sont à l'origine des deux

familles d'acides gras dont les précurseurs (ou acides gras essentiels) ne peuvent être synthétisés par l'homme. Il s'agit de l'acide linoléique (18 :2n-6), précurseur de la famille n-6, et de l'acide α -linoléique (18 :3n-3), précurseur de la famille n-3 (Figure 7) (Calder et al., 2002 a).

Le métabolisme des acides gras aboutit à la formation de dérivés supérieurs faisant intervenir successivement plusieurs désaturases et élongases. L'acide linoléique conduit aux dérivés de la famille n-6. L'acide α -linoléique conduit aux acides eicosapentaénoïque (EPA, 20 :5n-3) et docosahexaénoïque (DHA, 22 :5n-3). L'acide oléique conduit aux dérivés de la famille n-9 (Nathan, 2002).

Les acides gras essentiels (AGE) font partie intégrante de toutes les cellules de l'organisme et sont des constituants qui jouent un rôle clé dans la structure, le métabolisme et la régulation des cellules. Les AGE améliorent et régulent la fonction cellulaire, réduisent l'inflammation, modulent la réponse immunitaire, optimisent la santé et le bien-être et aident à prévenir les maladies chroniques (Connor, 2000). Notre nourriture doit comporter suffisamment d'acides gras polyinsaturés pour éviter des carences secondaires à leur destruction par les radicaux libres. En effet, Les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy (Meagher et al., 2000).

Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

Les principales sources d'acides gras polyinsaturés (AGPI) alimentaires à longue chaînes sont les huiles végétales, les margarines élaborées à partir de ces dernières et les huiles de poisson. Parmi les huiles riches en acide oléique on trouve l'huile d'olive, de palme et de colza tandis que les huiles riches en acide linoléique sont l'huile de nigelle, de tournesol, de maïs, de soja et d'arachide. Les acides gras de la famille n-3 sont présents dans les huiles de poissons. L'huile de sardine est riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) dont les plus importants sont l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) (Davis et al., 2003).

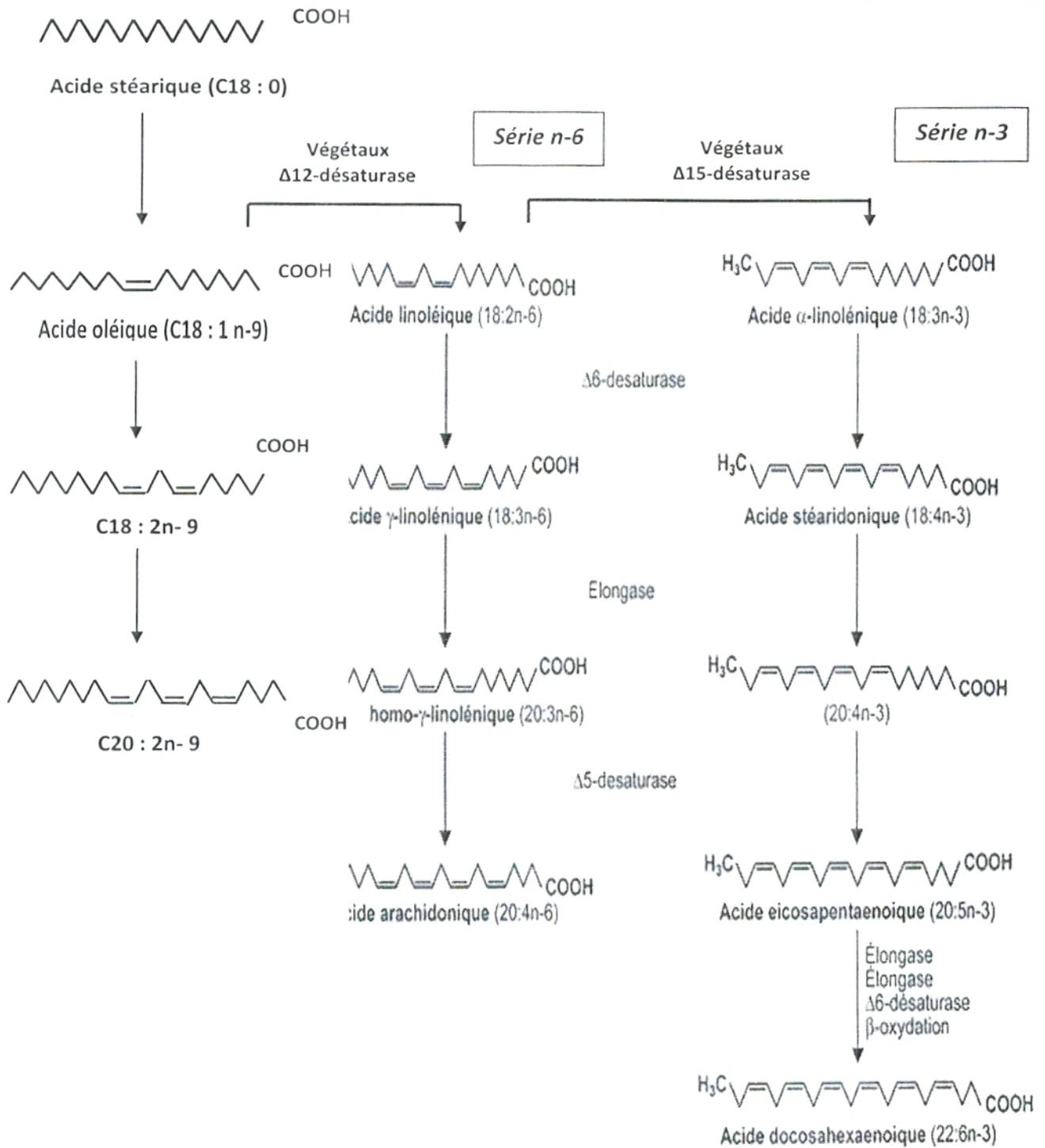


Figure 7 : Filiation et métabolisme des acides gras (Nathan, 2002).

Les acides gras de la famille n-3 sont présents dans les huiles de poissons. L'huile de sardine est riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) dont les plus importants sont l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) (Davis et al., 2003).

Les eicosanoides sont des dérivés oxygénés des AGPI à 20 atomes de carbone. Ils regroupent les prostaglandines (PGs), les thromboxanes (TXs), les leukotriènes (LTs), les acides hydroperoxydés (HPETE) et hydroxylés (HETEs). Leur synthèse s'effectue après libération de l'acide gras à partir des phospholipides membranaires par la phospholipase A2 (Calder, 2001).

L'acide gras ainsi libéré peut entrer dans deux voies métaboliques : celles des cyclooxygénases et celle des lipoxygénases. La voie des cyclooxygénases donne naissance aux PGs et TXs. Dans la seconde voie, les lipoxygénases produisent les HPETE et les HETEs. Le HPETE donne naissance aux leucotriènes.

Ces molécules se comportent à la fois comme médiateurs intracellulaires et comme des hormones locales qui jouent de nombreux rôles physiologiques et physiopathologiques (notamment le processus inflammatoire) (Nathan, 2002).

Les eicosanoides sont impliqués dans la régulation de la réaction inflammatoire et dans certains aspects du fonctionnement des neutrophiles, des monocytes/macrophages, des cellules T et B. On distingue trois séries d'eicosanoides selon l'acide gras précurseur. Ainsi, le 20 : 3n-6 est le précurseur des prostaglandines et des thromboxanes de la série 1 ; en tant que substrat de la 15-lipoxygénase, il est le précurseur de l'acide 15 hydroxy-gamma linoléique. Le 20 : 4 n-6, l'acide gras insaturé (AGI) le plus abondant dans les membranes, constitue la principale source d'eicosanoides. En tant que substrat de la 5 lipoxygénase, il conduit à la formation des leucotriènes de la série 4 et au 5-HETE. Via la voie des cyclo-oxygénases, il donne également naissance aux prostaglandines et thromboxanes de la série 2. L'EPA, de son côté, conduit à la formation des leucotriènes de la série 5 et aux prostaglandines et thromboxanes de la série 3 (Figure 8) (Lecerf, 2000).

Les prostaglandines et les leucotriènes ont un effet pro-inflammatoire marqué. Cependant, les eicosanoides dérivés des acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 sont environ 100 fois moins actifs dans le processus inflammatoire que ceux de l'acide arachidonique.

Une augmentation de l'apport en acide gras n-3 (18 :3n-3, EPA, DHA) s'accompagne d'une diminution prononcée de la réaction inflammatoire par diminution de la synthèse des leucotriènes de la série 4 dû au remplacement du 20 : 4n-6 par le 20 : 5n-3 dans les phospholipides membranaires.

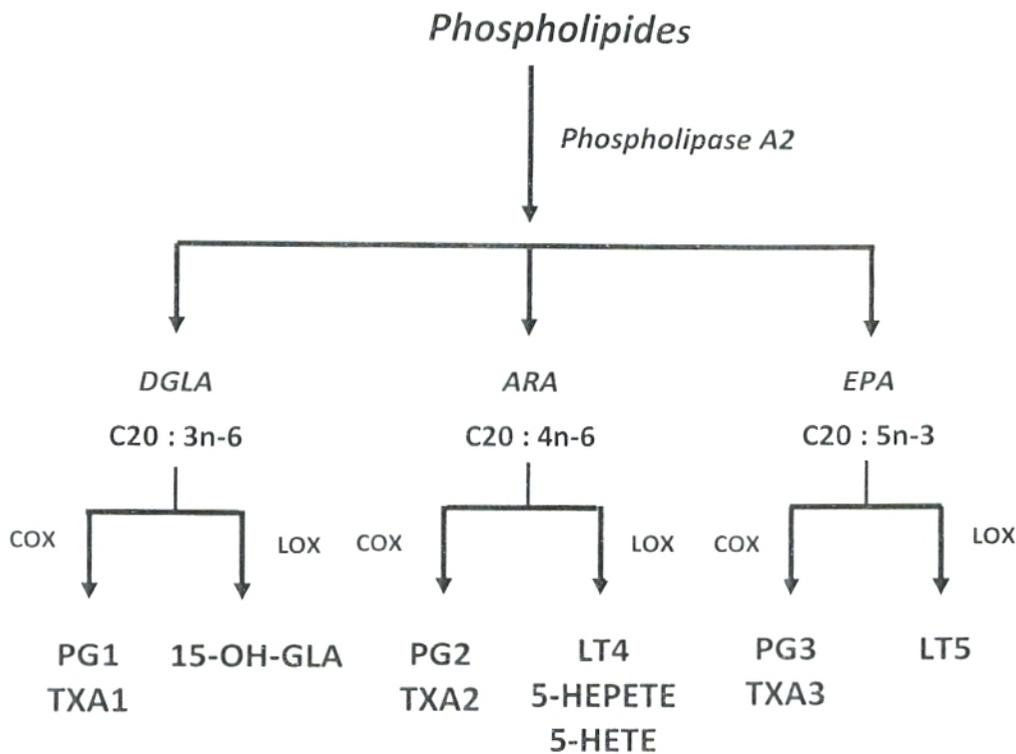


Figure 8 : Les différentes séries d'eicosanoïdes (Lecerf, 2000).

DGLA : acide dihomog- δ -linoléique (20 : 3n-6), **ARA** : acide arachidonique (20 : 4n-6), **EPA** : acide eicosapentaénoïde (20 : 5n-3), **COX** : cycloxygénases, **Lox** : lipoxygénases, **PG** : prostaglandines, **TX** : thromboxane, **LT** : leucotriènes, **HPETE** : acide hydroperoxyde, **HETE** : acide hydroxyle, **15-OH-GLA** : acide hydroxy-gamma linoléique.

Ceci peut être dû à la compétition entre le 18 : 3n-3 et 18 : 2n-6 au niveau de la $\Delta 6$ - désaturase, ou à l'apport direct d'acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne, le DHA pouvant être retroconverti en EPA (Nathan, 2002).

Les acides gras de la série n-3 ont d'autres effets anti-inflammatoires (Belluzzi, 2002). En effet, des études sur des cultures cellulaires ont démontré que l'EPA et le DHA pouvaient inhiber la production d'IL-6 et de TNF- α par les monocytes et la production d'IL-6 et d'IL-8 par les cellules endothéliales veineuses alors que cet effet n'est pas observé avec les acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série n-6 (Calder, 2001).

Il est maintenant bien admis que les lipides exercent une action immunomodulatrice et de nombreuses études ont mis en évidence leur rôle important dans le contrôle de la réponse immunitaire. En effet, la quantité et la nature des lipides dans l'alimentation modulent la fonction immunitaire (De Pablo et al., 2002).

L'équilibre entre acide gras polyinsaturé (AGPI) n-6 et n-3 ainsi que le rapport acides gras saturés/acides gras polyinsaturés (AGS/AGPI) du régime alimentaire influencent et modulent les fonctions immunitaires. Ces données ouvrent des perspectives intéressantes en matière de prévention et de traitement des maladies auto-immunes, cardiovasculaires, inflammatoires et lors des transplantations d'organes (Calder, 2004).

De nombreuses enquêtes épidémiologiques ont largement décrit la faible incidence des maladies auto-immunes et inflammatoires dans les populations consommant de l'huile d'olive et de l'huile de poisson dans leur alimentation (Stoneham et al., 2000).

Basées sur ces études épidémiologiques, plusieurs études expérimentales visant à étudier les effets des acides gras insaturés (AGI) sur le système immunitaire ont été menées « in vitro » chez l'animal et l'homme. L'addition d'acides gras insaturés (AGI) au milieu de culture des cellules immunitaires ou la supplémentation des régimes alimentaires par des acides gras polyinsaturés (AGPI) altèrent divers paramètres de la réponse immunitaire (Sierra et al., 2008), notamment la réponse proliférative des lymphocytes aux mitogènes (Verlengia et al., 2004), la production des cytokines, l'activité des NK et l'expression des molécules de surface sur les lymphocytes T (Thies et al., 2001). La supplémentation des régimes alimentaires riches en acides gras insaturés (AGI) modifie également la

production des eicosanoïdes et la composition en acides gras des phospholipides membranaires (Belluzzi, 2002).

Plusieurs techniques *in vitro* ont mis en évidence un effet immunosuppresseur des acides gras polyinsaturés (AGPI) et ont montré que ces derniers inhibent la prolifération des lymphocytes T stimulés par l'agent mitogène de façon dose dépendante (Verlengia et al., 2004). Cependant, il est important de noter que tous les acides gras n'ont pas les mêmes propriétés immunomodulatrices. En effet, les acides gras saturés (AGS) ont peu ou pas d'effet sur la réponse lymphoproliférative, tandis que les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont inhibiteurs.

Plusieurs études se sont intéressées au mécanisme par lequel les acides gras polyinsaturés (AGPI) exercent leur effet immunomodulateur (Sweeney et al., 2005).

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 peuvent influencer la phosphorylation des MAP kinases (ERK1 /ERK2) et l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire. Ils peuvent également moduler la sécrétion de cytokines et la différenciation de cellules-T (TH0) en phénotype TH1 ou TH2.

Généralement, la protéine kinase C (PKC) est activée par le diacylglycérol (DAG) mais certains travaux montrent que cette enzyme peut être également activée *in vitro* par de fortes concentrations de différents acides gras, tels que l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide arachidonique, indépendamment de la présence de phosphatidylsérine. Ainsi, ces acides gras interagissent avec la PKC sur le site de liaison de phosphatidylsérine. Cependant, les diacylglycérols (DAG) contenant les acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 exogènes peuvent exercer des effets différents sur l'activation de cette enzyme. Il est possible que ces DAG-AGPI n-3 puissent influencer l'activation de différentes isoformes de la protéine kinase C (PKC), et par conséquent, la prolifération cellulaire-T lors de la progression de certaines maladies, liées à un dysfonctionnement du système immunitaire. De plus, les acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 peuvent jouer un rôle en tant que seconds messagers lorsqu'ils sont libérés, à partir de la membrane plasmique, sous l'action de phospholipase A₂ cytosolique (Denys et al., 2002).

L'acide docosahexaénoïque (DHA) augmente la concentration du calcium intracellulaire d'une manière dose dépendante dans cellules-T humaines. De même, l'anticorps anti-CD3, entraîne des élévations de $[Ca^{2+}]$ à partir du réticulum endoplasmique. Ces résultats démontrent que le DHA dans les cellules-T induit une augmentation de $[Ca^{2+}]$ intracellulaire, ayant pour origine le réticulum endoplasmique (RE) ainsi que l'ouverture des canaux calciques (Denys et al., 2005).

Matériels et Méthodes

I. Population étudiée

Cette étude est réalisée au niveau des établissements primaires et moyens de la daïra d'Imama. Elle est menée en milieu scolaire auprès des enfants âgés de 6 à 14 ans.

Dans un premier temps, le poids, la taille, l'âge et le sexe de chaque enfant sont notés. L'obésité est définie par le calcul de l'index de masse corporelle (IMC, Poids/Taille², Kg/m²) à partir des courbes de corpulence qui se trouvent dans les carnets de santé. Les enfants dont l'IMC est au-delà du 97^{ème} percentile des courbes de corpulence sont considérés comme obèses.

Par la suite, deux types d'enquêtes sont réalisés auprès des enfants et de leurs parents portant sur les conditions socioéconomiques et sur les facteurs prédictifs de l'obésité infantile. Les questionnaires détaillés sont donnés en annexes.

Le but de l'étude est expliqué aux parents et aux enfants, leurs consentements sont obtenus préalablement. Les parents sont par la suite invités à emmener leurs enfants à la polyclinique de Kiffane (Tlemcen) pour des prélèvements sanguins.

Les prélèvements sont effectués sur une population de 26 enfants témoins et 20 enfants obèses.

Les caractéristiques de la population étudiée sont représentées dans le tableau 01.

II. Etude épidémiologique

II.1. Enquête socioéconomique

L'objectif de cette enquête est de connaître les conditions socioéconomiques des parents, examinant le niveau scolaire et l'activité professionnelle des parents, les conditions de logement et les caractéristiques de la famille (ci-joint guide d'entretien de l'enquête socioéconomique en annexe).

Tableau 01 : Caractéristiques de la population étudiée.

	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
<i>Nombre</i>	26	20
<i>Sexe (Garçon/Fille)</i>	14/12	12/8
<i>Age (ans)</i>	9.85 ±0.63	10.30 ±0.27
<i>Taille (m)</i>	1.42 ±0.02	1.40 ±0.02
<i>Poids (kg)</i>	34.21 ±1.73	53.30 ±1.88 ***
<i>IMC (kg/m²)</i>	17.03 ±0.50	26.07 ±0.53 ***

Chaque valeur représente la moyenne ± l'erreur standard. IMC : indice de masse corporelle, poids/taillé².

La comparaison des moyennes entre témoins et obèses est réalisée par le test de Student après analyse des variances.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (***) p <0.001).

II.2. Enquête sur les facteurs prédictifs

L'objectif de cette enquête est de déterminer les facteurs environnementaux ou génétiques à l'origine de l'obésité infantile. Un questionnaire portant sur les différents facteurs prédictifs est mené auprès des parents et des enfants (ci-joint guide d'entretien de l'enquête sur les facteurs prédictifs en annexe).

III. Etude biochimique et immunologique

III.1. Prélèvements sanguins

Ils se font à jeun, au niveau de la veine du pli du coude, sur des tubes avec un anticoagulant (héparine ou EDTA). On prélève 5 ml de sang et on isole les lymphocytes le jour même du prélèvement.

III.2. Analyse des paramètres hématologiques

III.2.1. Frottis sanguin

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

Une gouttelette de sang est déposée sur une lame en verre et sert à la préparation du frottis sanguin en suivant la technique donnée dans la figure 9. La coloration permet l'identification des leucocytes grâce à leurs caractéristiques propres mises en évidence par un colorant approprié.

On réalise la coloration du frottis par une solution de May-Grunwald-Giemsa, basée sur l'emploi successif de deux colorants : le May-Grunwald et le Giemsa. Le premier fixe le frottis par son alcool méthylique et colore les éléments acidophiles et les granulations spécifiques des leucocytes. Le second colore surtout les noyaux et les parties azurophiles. Le frottis est examiné au microscope à l'aide de l'objectif à immersion (objectif 100).

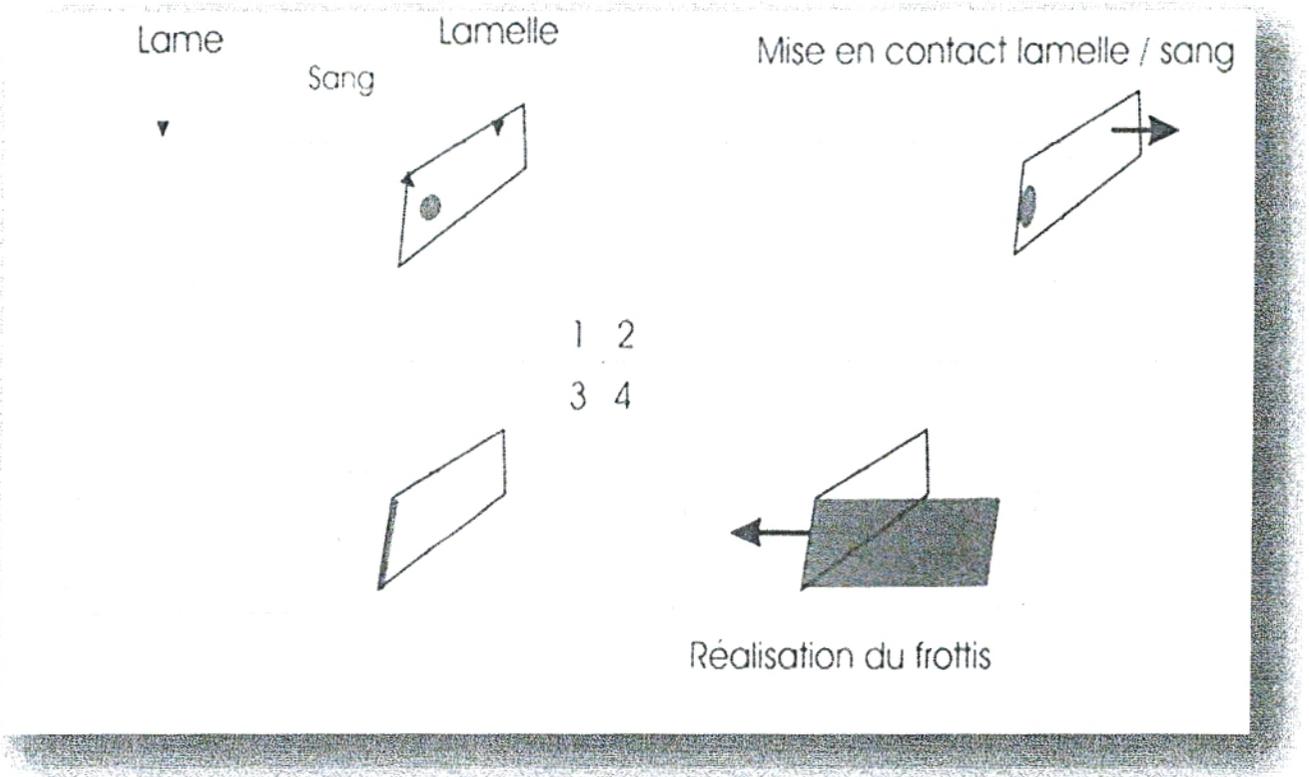


Figure 9 : Préparation du frottis sanguin.

III.2.2. Numération globulaire

a)- Numération des hématies:

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

b)- Numération des leucocytes

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

c)- Numération des plaquettes

La numération des plaquettes permet de calculer le nombre absolu de plaquettes contenues dans un certain volume de sang. Le sang est amené à une dilution convenable à l'aide du liquide de Marcano. Le comptage se fait dans la cellule de Thomas ou de Malassez placée sur un microscope.

III.2.3. Dosage de l'hémoglobine : Méthode de SAHLI

L'hémoglobine du sang est transformée en hématine de teinte brune par addition de HCL. La coloration obtenue est comparée à la lumière du jour avec celle de l'étalon de verre coloré inaltérable. Quand la solution étudiée et l'étalon ont la même couleur, la lecture se fait au niveau du tube doublement gradué de SAHLI et permet d'obtenir le taux d'hémoglobine en (g/L).

III.3. Paramètres immunologiques

III.3.1. Isolement des lymphocytes

L'isolement des lymphocytes se fait à partir d'un prélèvement sanguin par centrifugation dans un gradient de Ficoll. Le Ficoll, dont la densité est de 1.075, permet l'agrégation des hématies (Tableau 02).

La migration différentielle durant la centrifugation résulte en la formation de différentes couches contenant les différents types de cellules sanguines. Ainsi, les globules rouges et les granulocytes sédimentent complètement et se retrouvent dans le culot. Les lymphocytes ayant une densité inférieure à celle du Ficoll se trouvent à l'interface entre le Ficoll et le plasma après centrifugation. Ils sont par contre contaminés par d'autres cellules à sédimentation lente (Monocytes, plaquettes) (figure 10). Les lymphocytes sont récupérés de l'interface puis sont lavés pour éliminer les contaminants (Ficoll, plasma, plaquettes...). Le lavage se fait avec une solution saline équilibrée, dont la composition est donnée en annexe.

Après mélange et centrifugation, le surnageant est éliminé. Le lavage est recommencé deux fois, et les lymphocytes isolés sont prêts à l'emploi.

Les lymphocytes lavés sont par la suite remis en suspension dans 400µl de milieu de culture RPMI 1640 (dont la composition est donnée en annexe).

Afin de tester la viabilité des cellules isolées, 20µl de cette suspension cellulaire sont prélevés dans un tube sec et complétés à 1 ml avec du RPMI. Une goutte de bleu de trypan (colorant permettant de distinguer les cellules vivantes) est ajoutée, la numération cellulaire est effectuée sur la chambre quadrillée de la cellule de Malassez. Par la suite, la suspension cellulaire est ajustée à une concentration de $4 \cdot 10^6$ cellules /ml et ainsi préparée pour les différentes incubations.

Tableau 02 : Taille et densité des cellules sanguines.

	<i>Taille (μM)</i>	<i>Densité</i>	<i>Vitesse de sédimentation</i>
<i>Globules rouges</i>	7 (6.5 – 7.5)	1.0980 (1.098-1.105)	 +
<i>Eosinophiles</i>	12 (12 – 15)	1.091 (1.087 – 1.096)	
<i>Neutrophiles</i>	12 (12 – 15)	1.088 (1.082- 1.097)	
<i>Basophiles</i>	9.5 (9 – 10)	1.078 (1.074 -1.082)	
<i>Monocytes</i>	15 (15 – 20)	1.071(1.065 – 1.075)	
<i>Lymphocytes</i>	9 (8 – 10)	1.063 (1.057 – 1.067)	
<i>Plaquettes</i>	2 - 3	1.040	

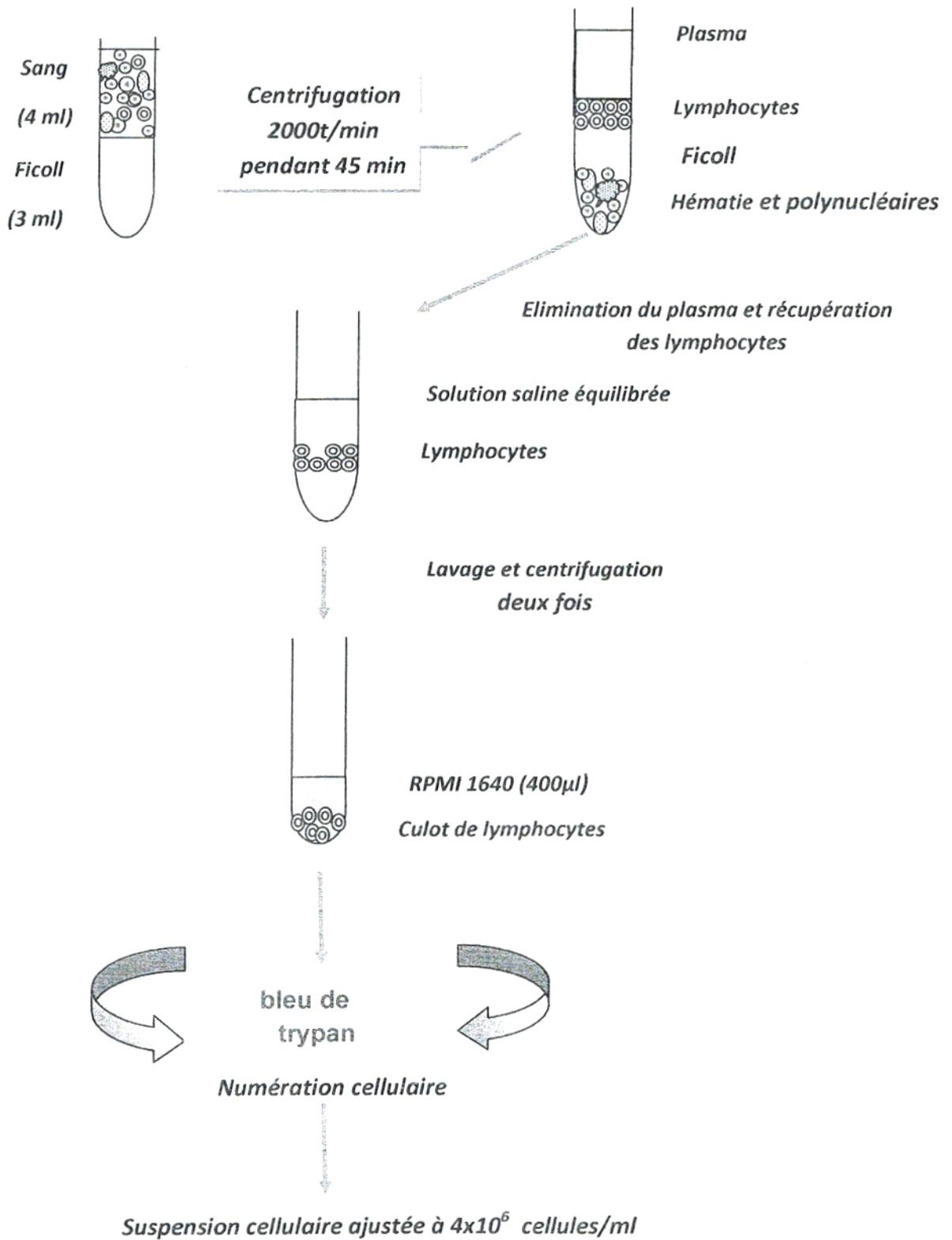


Figure 10: Méthode d'isolement et purification des lymphocytes.

Tableau 03 : Composition en acides gras et en vitamines des huiles utilisées (huile de poisson, d'olive et de nigelle).

	<i>Huile de poisson</i>	<i>Huile d'olive</i>	<i>Huile de nigelle</i>
<i>Acides gras</i>			
<i>Acide palmitique C16:0</i>	-	11,8 %	13.7%
<i>Acide stéarique C18:0</i>	-	2,2 %	2.7 %
<i>Acide oléique C18:1n-9</i>	-	72,6 %	23.7 %
<i>Acide linoléique C18:2n-6</i>	-	7,9 %	52 %
<i>Acide eicosapentaénoïque C20:5 n-3</i>	70 %	-	-
<i>Acide docosahexaénoïque C22:6 n-3</i>	12 %	-	-
<i>Vitamines</i>			
<i>Vitamine E</i>	3 %	0.5%	0.63 %
<i>Vitamine A</i>	-	-	0.10 %

La composition en acides gras des huiles est déterminée par CPG et celle en vitamines par HPLC au laboratoire UPRES Lipides, Université de Bourgogne, France.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- : Suspension cellulaire ($4 \cdot 10^6$ c/ml)
- : Insuline ($5 \mu\text{g/ml}$)
- : Concanavaline A ($5 \mu\text{g/ml}$)
- : Lipopolysaccharide ($20 \mu\text{g/ml}$)
- : Huile de poisson ($30 \mu\text{M}$)
- : Huile de nigelle ($30 \mu\text{M}$)
- : Huile d'olive ($30 \mu\text{M}$)

Figure 11 : Représentation schématique de la plaque d'incubation.

III.3.2.1. Comptage des lymphocytes :

Le comptage des lymphocytes se fait à l'aide de la cellule de Malassez. Le principe est basé sur le décompte au microscope optique des cellules colorées au bleu de Trypan, contenues dans un volume de suspension cellulaire déterminé et à dilution connue.

III.3.2.2. Dosage des protéines:

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

Après récolte et centrifugation des cellules, 50 µl de tampon de lyse (NAOH 0.5 N) sont ajoutés au culot cellulaire. 20 µl sont par la suite prélevés et serviront au dosage des protéines.

Pour la gamme étalon, l'albumine sérique bovine (sigma chemical company, Saint Louis, MO) utilisée comme standard, est préparée à partir d'une solution mère de 1 mg/ml.

Le dosage est réalisé grâce au réactif A.

L'ajout du réactif de Folin donne une coloration proportionnelle à la quantité en protéines présentes dans l'échantillon. La lecture est réalisée à 695 nm.

III.3.3. Dosage des interleukines:

III.3.3. 1. Dosage des interleukines 2 (IL-2):

Le dosage des interleukines 2 (IL-2) se fait selon le protocole du kit ELIZA (Genzyme, Cambridge, MA, USA) pour IL-2. La technique ELISA repose sur la mise en évidence des complexes antigènes-anticorps par l'utilisation d'un marqueur enzymatique lui-même révélabile par la transformation d'un substrat en produit coloré.

Le principe est basé sur l'utilisation de deux anticorps : un anticorps monoclonal anti-IL-2 et un polyclonal conjugué à la biotine. Un revêtement d'anticorps monoclonal anti-IL-2 est administré dans les micros puits de la plaque ELISA. L'IL-2 présente dans l'échantillon ou le standard, se lie aux anticorps absorbés dans les micropuits.

L'anticorps anti-IL-2 polyclonal conjugué à la biotine est ajouté et se lie à IL-2 capturés par le premier anticorps. L'anti-IL-2 conjugué à la biotine non lié est enlevé pendant l'étape de lavage. La streptavidine-HRP est ajoutée et se lie à l'anti-IL-2 conjugué à la biotine.

Pour l'incubation suivante, la streptavidine-HRP non liée est enlevée durant le lavage, et la solution de substrat réagissant avec le HRP est ajoutée aux puits. Un produit coloré est formé proportionnellement à la quantité des IL-2 présentes dans l'échantillon. La réaction est terminée par l'addition d'acide et l'absorbance est mesurée à 450 nm (Voir Annexe).

Une courbe étalon est préparée à partir du standard IL-2 fourni par le Kit de dosage.

III.3.3. 2. Dosage des interleukines 6 (IL-6):

Le principe du dosage des interleukines 6 (IL-6) repose sur l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-IL-6 et un polyclonal anti-IL-6 conjugué à la biotine. La technique utilisée est comparable à celle du dosage des IL-2. La gamme étalon est préparée à partir d'un standard IL-6.

III.3.4. Détermination de la composition en acides gras des phospholipides membranaires:

Une prise aliquote de lymphocytes initiaux ou stimulés sert à la détermination de la composition en acides gras des phospholipides membranaires. L'extraction des lipides se fait selon Bligh et Dyer (1959); grâce à un mélange méthanol/ chloroforme/NaCl 2 M (1/1/0.9;V/V/V).

La séparation des phospholipides se fait par:

Chromatographie sur couche mince (CCM):

L'extrait lipidique est déposé sur les plaques de gel de silice (G 60, Merck, Allemagne).

La migration se fait grâce à un mélange d'hexane, d'éther diéthylique, et d'acide acétique (90/30/1.V/V/V). Après migration, la révélation se fait grâce aux vapeurs d'iode. Les phospholipides qui demeurent au niveau du dépôt, sont grattés et récupérés dans un tube en verre soviere.

La composition en acides gras des phospholipides est déterminée par:

Chromatographie en phase gazeuse (CPG):

Après addition d'une quantité connue de standard interne (acide héptadécanoïque : 17 : 0, C₁₇ H₃₄ O₂ dilué dans du benzène à 2 mg/ml), les acides gras sont saponifiés grâce à l'addition de NaOH méthanolique, puis sont méthylés par le Bromotrifluoromethanol (BF₃). La séparation des différents acides gras est réalisée par la suite par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire en

pyrex de 39 m de longueur et 0.3 mm de diamètre interne, remplie avec du carbowax 20 M, Applied Sciences Labs, State College, PA). Le chromatographe est équipé d'un injecteur de type ROS et d'un détecteur à ionisation de flamme relié à un intégrateur- calculateur Enica 21 (Delsi instruments, France). L'identification des acides gras est réalisée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des standards d'acides gras (Elysiam, USA). La surface des pics d'acides gras est proportionnelle à leur quantité; elle est calculée à l'aide d'un intégrateur.

IV. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des lymphocytes

Après récolte et centrifugation des lymphocytes initiaux ou stimulés, les cellules sont lysées (avec du NaOH 0.5 N) et le surnageant est prélevé afin de déterminer quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant cellulaire.

IV. 1. Dosage du malondialdéhyde (Méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. 1996 ; Voir Annexe)

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

La concentration en MDA est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe MDA – TBA ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

IV. 2. Dosage des hydroperoxydes (Méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. 1996 ; Voir Annexe)

Les hydroperoxydes sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange (Fox2 ; kit Peroxoquant méthanol- compatible formulation, Rockford, IL, USA) en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique de la triphenylphosphine (TPP).

Cette méthode est basée sur une peroxydation rapide transformant le Fe^{2+} en Fe^{3+} en milieu acide. Les ions Fe^{3+} en présence du xylénol orange [(O-cresolsulfonphtalein-3',3''-bis (methylimino-diacetic acid sodium))], forment un complexe Fe^{3+} -xylénol orange. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration plasmatique en hydroperoxydes à une longueur d'onde de 560 nm.

IV. 3. Dosage des protéines carbonylées (Méthode de LEVINE et al., 1996 ; Voir Annexe)

Les protéines carbonylées (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée. La concentration des groupements carbonylés est déterminée par lecture à des longueurs d'onde de 350, 360 et 375nm.

IV. 4. Dosage de l'activité de la catalase (Méthode de AEBI, 1974 ; Voir Annexe)

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (AEBI, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps.

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

V. Analyse statistique

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

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard.

Après analyse des variances, la comparaison des moyennes est réalisée par le test « t » de Student entre les différents groupes (enfants obèses et témoins), ou entre deux incubations différentes dans le même groupe. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA.

Les moyennes sont considérées significativement différentes à $P < 0.05$.

Résultats et Interprétations

I. Etude épidémiologique

I.1. Evaluation des conditions socioéconomiques

Les variables socioéconomiques de la population étudiée sont déterminées à partir des enquêtes et les résultats sont donnés dans le tableau 03.

Nos résultats indiquent que le niveau scolaire de la majorité des parents des enfants témoins et obèses est soit secondaire soit supérieur.

La plupart des enfants témoins habitent des immeubles (51%) ou des maisons semi collectives (29 %) ou des villas (20 %). En ce qui concerne les obèses, 60 % des enfants habitent des villas, 22 % des maisons semi collectives et 18% des immeubles. L'équipement sanitaire reste adéquat chez les deux groupes étudiés.

Nos résultats indiquent que la majorité des pères des enfants témoins sont des enseignants (32%) ou des cadres moyens (40.5%), et que la moitié des enfants obèses ont des pères commerçants (55.35 %) et des mères sans emploi (65 %).

Le revenu global des deux groupes témoins et obèses est moyen dans la majorité des cas (60 à 75.5%). Cependant, 34.75% des enfants obèses appartiennent à des familles dont le revenu est élevé contre 13.5% chez les enfants témoins.

Tableau 04 : Evaluation des conditions socioéconomiques

<i>Les variables socio-économiques</i>		<i>Témoins</i>	<i>obèses</i>
<i>Niveau scolaire</i>	▪ Analphabète	00	00
	▪ Primaire	10%	20%
	▪ Secondaire	60%	50%
	▪ Supérieur	30%	30%
<i>Habitat</i>	▪ Immeuble	51 %	18%
	▪ Maison semi-collective	29%	22%
	▪ Villa	20%	60%
	▪ Maison en ruine	-	-
	▪ Baraque	-	-
<i>Equipement sanitaire</i>	▪ Cuisine	100 %	100 %
	▪ Salle de Bain	100 %	100 %
	▪ Eau courante	100 %	100 %
<i>Taille du ménage</i>	▪ ≤ 3 personnes	33.5%	58. %
	▪ ≥ 4 personnes	66.5%	42%
<i>Emploi du père</i>	▪ Travailleur instable	5%	4.40%
	▪ Ouvrier	05%	08%
	▪ Enseignant	32 %	15 %
	▪ Cadre moyen	30.50%	30.10%
	▪ Commerçant	42.50%	55.35%
	▪ Artisan	-	-
	▪ Autres	5%	7.15%
<i>Emploi de la mère</i>	▪ Sans emploi	60%	65%
	▪ Secrétaire	-	-
	▪ Etudiante	-	-
	▪ Enseignante	30%	10.5%
	▪ Cadre moyen	6%	10 %
	▪ Autres	4%	10%
<i>Revenu global</i>	▪ Faible	10.55%	05.25%
	▪ Moyen	75.50%	60 %
	▪ Elevé	13.50%	34.75%

Chaque valeur représente le pourcentage des variables socioéconomiques au sein de la population témoin et la population obèse.

I.2. Facteurs prédictifs de l'obésité infantile

Les Facteurs prédictifs de l'obésité infantile de la population étudiée sont déterminés à partir des enquêtes et les résultats sont donnés dans le tableau 04.

On constate que presque la totalité des enfants obèses (90 %) possèdent une obésité familiale, contre 46 % chez les enfants témoins.

Le temps passé devant la télévision est élevé chez les enfants obèses comparés à leurs témoins. De même, on remarque que la participation des enfants obèses dans les activités sédentaires tel que les jeux vidéo, l'ordinateur et le DVD est globalement supérieure chez les obèses (80.52%) comparés aux témoins (65%).

La majorité des enfants témoins et obèses marchent à pieds, cependant 30.50 % des enfants obèses utilisent la voiture comme moyen de transport contre 18 % chez les enfants témoins.

30 % des enfants obèses n'ont aucune activité sportive contre 10 % chez les enfants témoins. Néanmoins, 15.5% des enfants obèses ont une activité sportive intense contre 25.5% chez les enfants témoins.

On note aussi que 65 % des enfants obèses sont des enfants calmes et 18 % présentent une agitation moyenne. Cependant, 44 % des enfants témoins présentent une agitation forte.

En ce qui concerne l'état psychologique des enfants, la majorité des enfants étudiés sont gais, néanmoins 30 % des enfants obèses présentent une dépression et un dégoût contre 10 % chez les enfants témoins.

Tableau 05 : Facteurs prédictifs de l'obésité infantile.

<i>Facteurs prédictifs de l'obésité infantile</i>		<i>Témoins</i>	<i>obèses</i>
<i>Présence de l'obésité dans la famille (%)</i>	▪ Oui	46%	90 %
	▪ Non	54 %	10%
<i>Durée moyenne de sommeil (min)</i>		510.18 ± 12.84	540 ± 18.97
<i>Temps passé devant la télévision par jour (min)</i>		100 ± 17.34	190 ± 20.01*
<i>Utilisation des consoles de jeux (%)</i>	▪ Oui	65%	80.52%
	▪ Non	35%	19.48%
<i>Moyen de transport (%)</i>	▪ Voiture	18%	30.50%
	▪ Bus	-	-
	▪ vélo	10%	-
	▪ Marche à pied	72 %	69.50%
<i>Activité sportive (%)</i>	▪ Aucune	10%	30%
	▪ Faible	30%	30.28%
	▪ Moyenne	35.50%	24.22%
	▪ Intense	25.50%	15.5%
<i>Activité d'agitation (%)</i>	▪ Enfant calme	32 %	65%
	▪ Agitation moyenne	13.06%	20.70%
	▪ Agitation forte	44%	18%
	▪ Balancement des pieds	20%	14%
	▪ Marche de long en large	-	-
<i>Etat psychologique de l'enfant</i>	▪ Gaieté	55%	45%
	▪ Anxiété	00	00
	▪ Dépression	10%	30%
	▪ Ennui	00	13%
	▪ Solitude	20%	15%
	▪ Carence narcissique	00	00
	▪ Stress	00	12%
	▪ Dégoût	10%	30%
	▪ Autres	20%	00

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type ou le pourcentage. Les moyennes sont comparées par le test « t » de Student.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses, * p<0.05.

II. Etude hématologique

II.1. Hémogramme chez les enfants obèses et témoins (Figure 12 ; Tableau A1 en Annexes).

Une augmentation hautement significative du nombre de globules blancs, rouges, et plaquettes est notée chez les enfants obèses comparés aux enfants témoins. Néanmoins, aucune différence significative n'a été notée pour le taux d'hémoglobine entre les enfants obèses et témoins.

II.2. Nombre de lymphocytes, monocytes et polynucléaires chez les enfants obèses et témoins (Figure 13 ; Tableau A2 en Annexes).

Le nombre de lymphocytes, monocytes et de polynucléaires augmente de manière significative chez les enfants obèses par rapport aux enfants témoins.

III. Etude immunologique

III.1. Comptage des lymphocytes

III.1.1. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins (Figure 14 ; Tableau A3 en Annexes).

Les lymphocytes T et B des enfants obèses et témoins augmentent de manière nette et significative en présence de l'agent mitogène (Con A ou LPS) par rapport aux incubations initiales (sans l'agent mitogène).

Un supplément d'insuline cependant potentialise l'effet de la Con A et la LPS où une augmentation de la prolifération est observée.

La différence entre les enfants obèses et témoins reste significative. Ainsi, la prolifération des lymphocytes est significativement réduite chez les enfants obèses comparés aux témoins, quelque soit l'agent mitogène.

Pour les lymphocytes B :

- Avant la stimulation par l'agent mitogène (LPS), la prolifération basale des lymphocytes B reste faible avec une différence significative entre les enfants obèses et les enfants témoins.

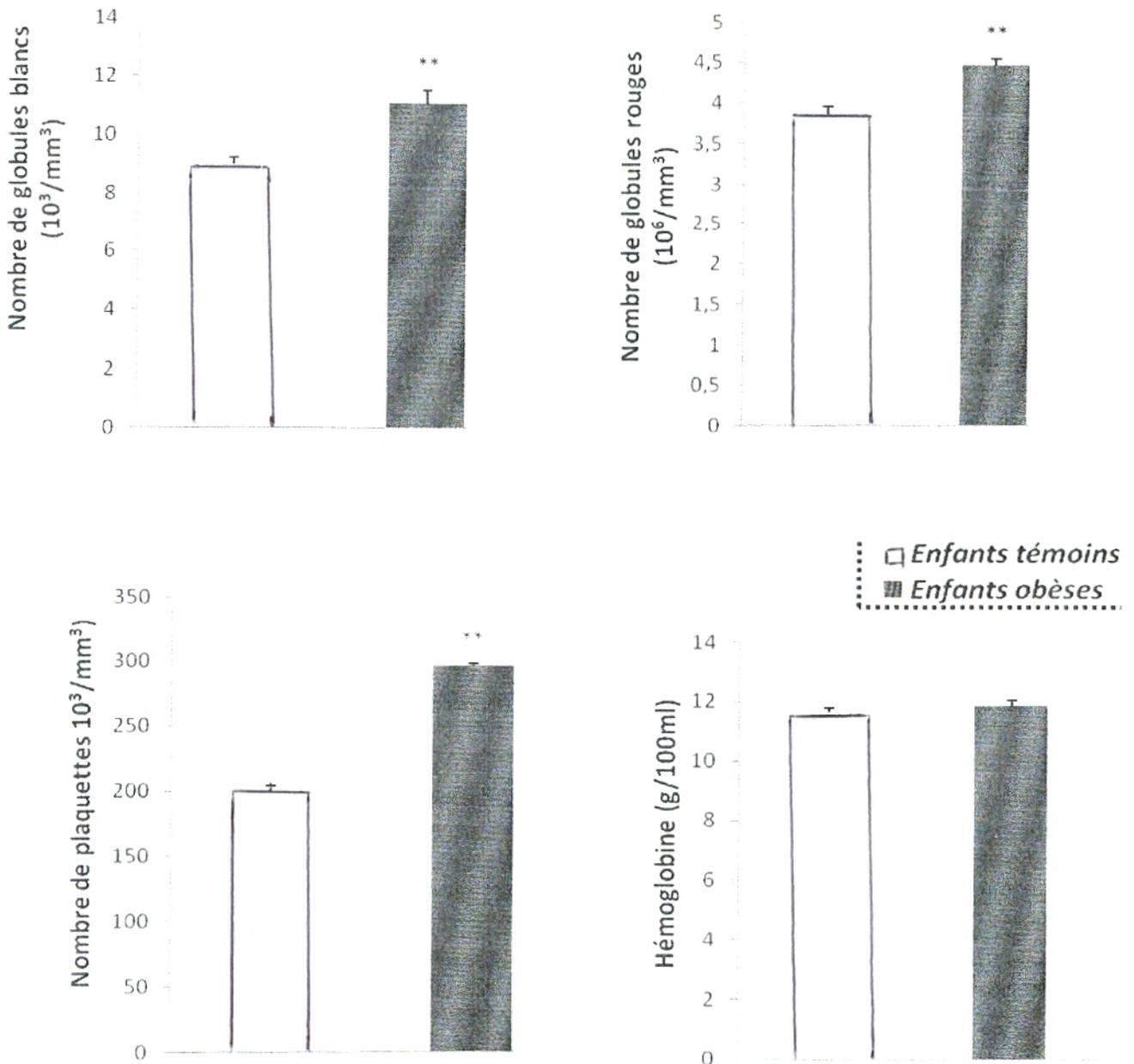


Figure 12 : Hémogramme chez les enfants obèses et témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (** p < 0.01).

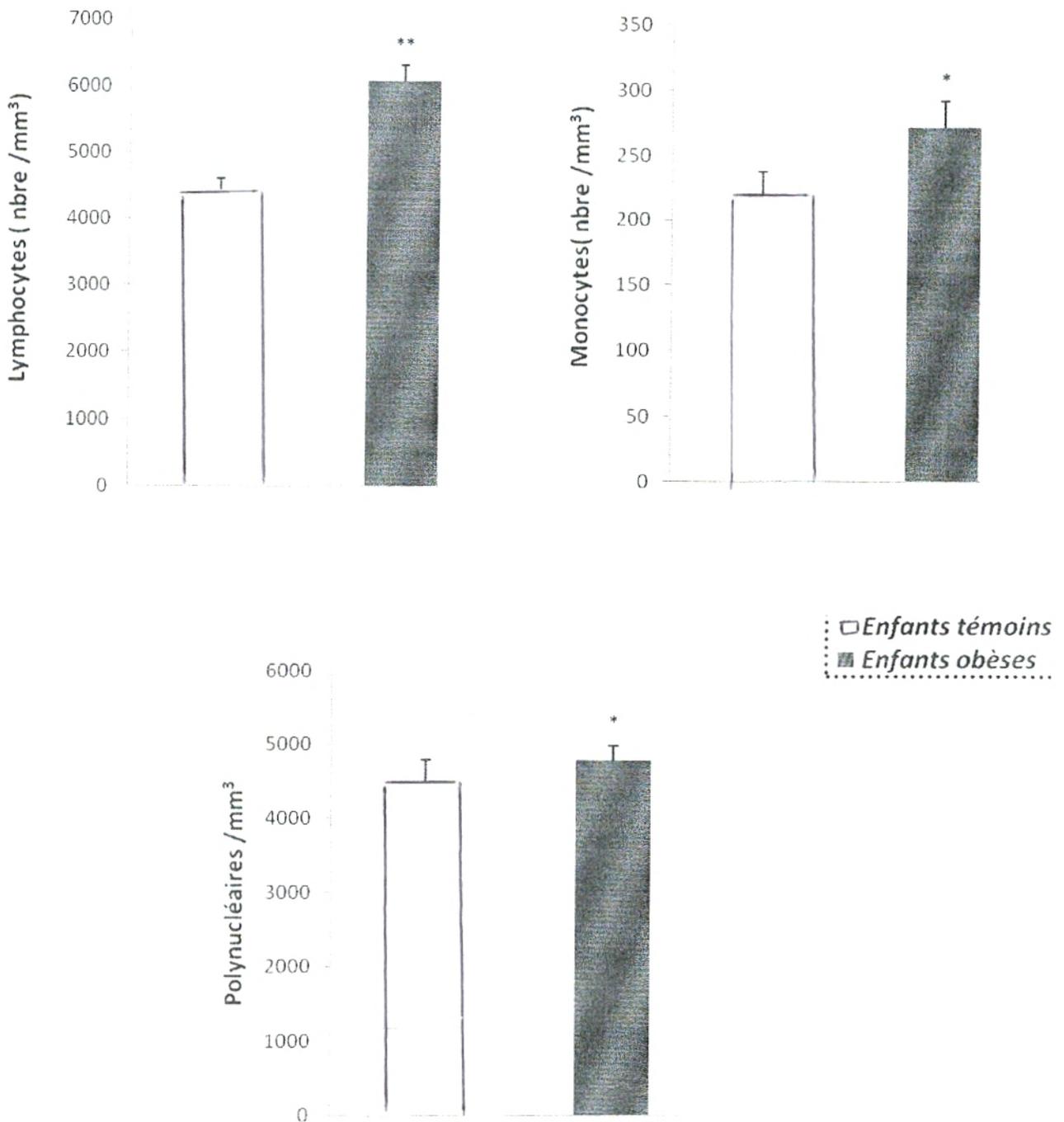


Figure 13 : Nombre de lymphocytes, monocytes et polynucléaires chez les enfants obèses et témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

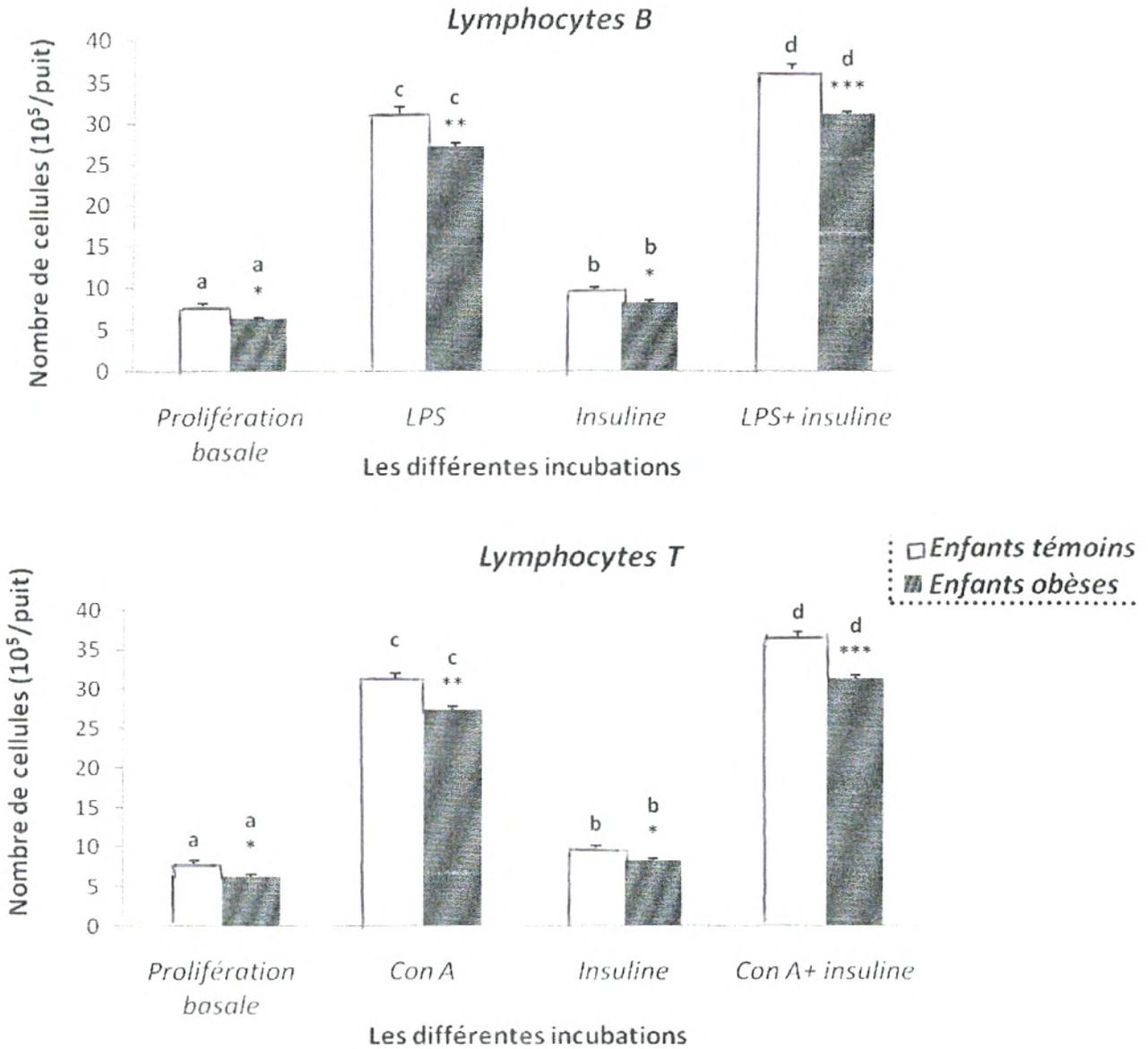


Figure 14 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10⁵ / puit) en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

- Une fois incubés avec l'agent mitogène, LPS puis LPS + Insuline, la prolifération des lymphocytes B augmente de 4 fois pour la LPS seule chez les enfants témoins et chez les obèses.
- Le nombre de cellules par puit augmente encore de 15 % dès l'ajout de l'insuline. Malgré cette stimulation, la prolifération in vitro des lymphocytes B des enfants obèses reste plus faible que celle des témoins.

Pour les lymphocytes T :

- La prolifération des lymphocytes T des enfants témoins est plus importante que celle des enfants obèses, quelque soit l'incubation.
- En présence de Con A, les lymphocytes T des enfants obèses sont stimulés significativement ($P < 0.01$) tout comme ceux des enfants témoins.
- La Con A et l'insuline stimulent de façon plus importante la lymphoprolifération chez les enfants obèses et les enfants témoins. En effet, la prolifération des lymphocytes T, chez les enfants, augmente de 4 fois avec la Con A seule et de 5 fois avec la Con A et l'insuline.

III.1.2. Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles (Figure 15 ; Tableau A4 en Annexes).

Les incubations réalisées en présence des trois huiles, montrent des effets différents sur la prolifération lymphocytaire :

- L'huile de poisson induit une réduction de la prolifération basale des lymphocytes chez les enfants témoins ($P < 0.05$). Par contre, la présence de l'huile d'olive et de nigelle dans le milieu d'incubation ne modifie pas la lymphoprolifération chez les témoins.
- L'huile de poisson provoque une augmentation significative de la lymphoprolifération chez les enfants obèses par rapport à la prolifération basale. De plus, en présence d'huile de poisson, le nombre de lymphocytes chez les obèses est significativement plus élevé que celui des témoins ($P < 0.05$).
- L'huile d'olive et de nigelle ne modifient pas la prolifération des lymphocytes chez les enfants obèses.
- En présence d'huile d'olive et d'huile de nigelle, aucune différence significative de la lymphoprolifération basale n'est notée pour les deux groupes d'enfants.

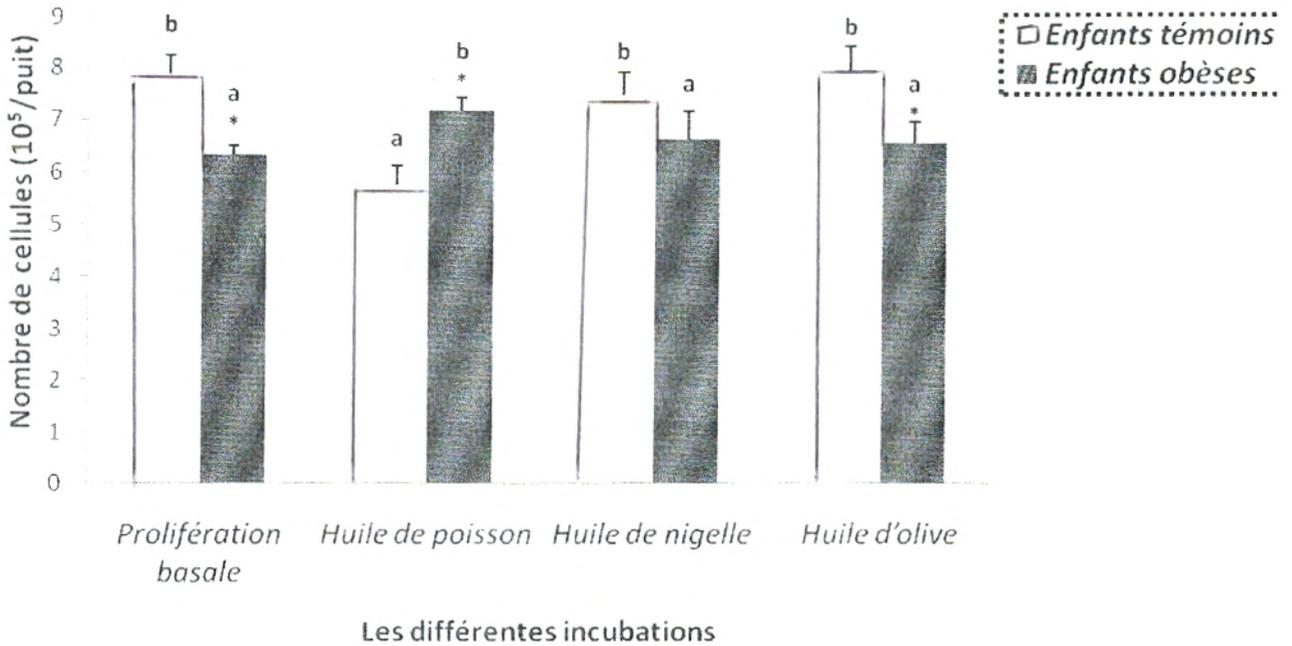


Figure 15 : Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

III.1.3. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins (Figure 16 ; Tableau A5 en Annexes).

En présence des agents mitogènes, les trois huiles provoquent une diminution significative de la lymphoprolifération chez les enfants obèses et témoins.

L'effet immunosuppresseur de l'huile de poisson, est plus marqué chez les enfants témoins. Cependant, l'effet immunosuppresseur de l'huile d'olive et de nigelle, est plus marqué chez les enfants obèses.

L'huile de poisson semble plus immunosuppressive que l'huile d'olive et de nigelle quelque soit l'incubation.

Pour les lymphocytes B :

- L'huile de poisson diminue la prolifération des lymphocytes B stimulés de manière significative chez les enfants obèses et témoins.
- L'huile d'olive et l'huile de nigelle ont un effet immunosuppresseur moins important que celui de l'huile de poisson chez les enfants obèses et témoins.
- Dans tous les puits, la différence entre les enfants obèses et témoins est significative. En effet, quelque soit l'incubation, la prolifération des lymphocytes B chez les obèses est réduite comparée à celle des enfants témoins sauf dans le cas de l'huile de poisson où elle devient plus importante chez les obèses.

Pour les lymphocytes T :

- En présence de la Con A, l'huile de poisson a un effet immunosuppresseur chez les enfants obèses et témoins.
- L'huile d'olive et l'huile de nigelle ont aussi un effet immunosuppresseur sur la lymphoprolifération stimulée, mais moins importante que dans le cas de l'huile de poisson, quelque soit le groupe d'enfants.
- La prolifération des lymphocytes T stimulés par la Con A est réduite chez les obèses comparés aux témoins, en présence d'huile d'olive et de nigelle. Cependant en présence d'huile de poisson, elle est plus élevée chez les obèses versus témoins.

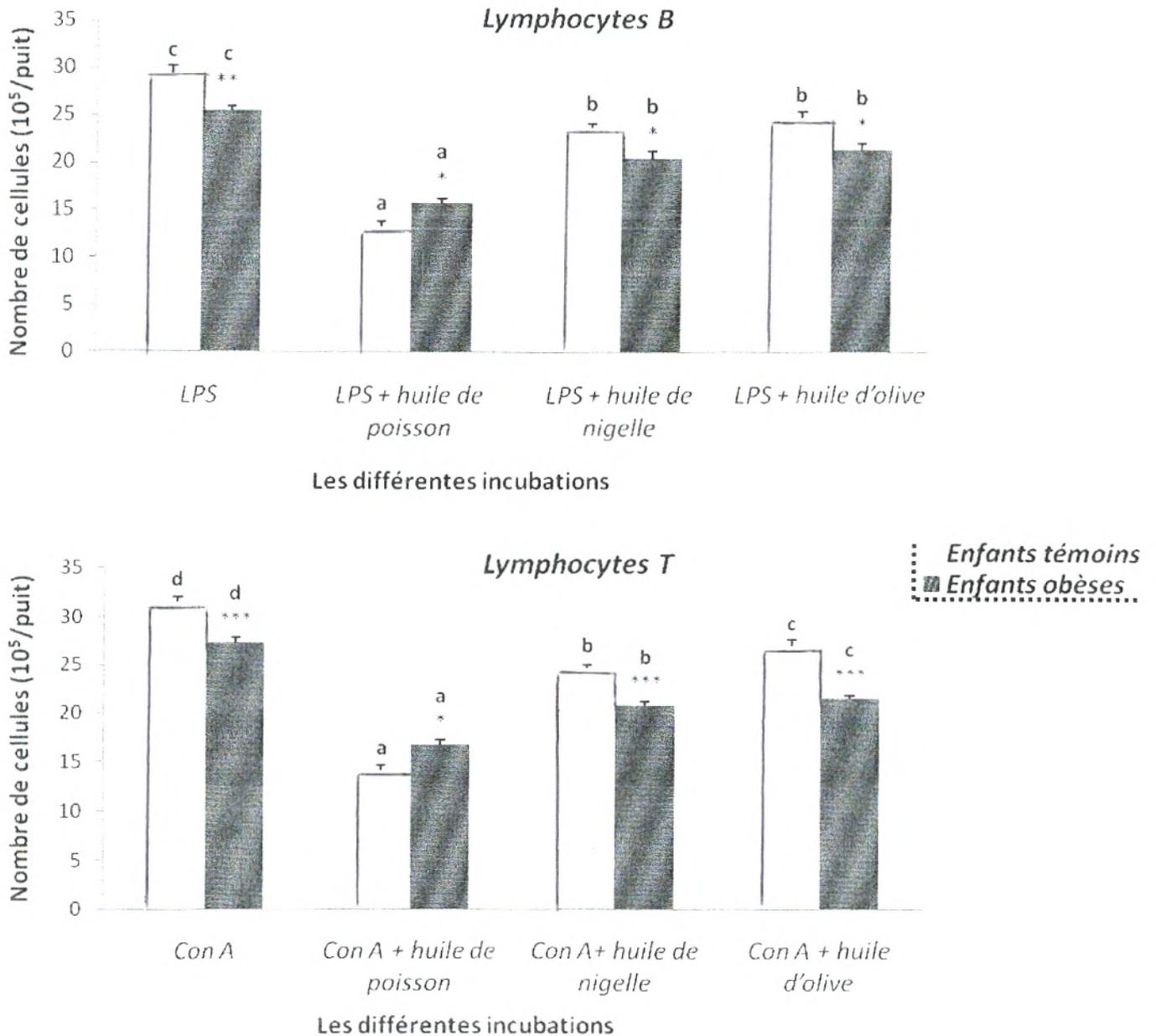


Figure 16 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x10⁵/puit) en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

III.1.4. Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins (Figure 17 ; Tableau A6 en Annexes).

L'addition de l'insuline dans le milieu d'incubation n'altère pas l'action immunomodulatrice des huiles.

En effet, en présence d'insuline, la lymphoprolifération est significativement réduite par l'huile de poisson chez les enfants témoins et obèses.

Cette lymphoprolifération est aussi réduite par l'huile d'olive et de nigelle. L'huile de poisson semble plus efficace que l'huile d'olive et de nigelle, puisque dans ce cas la prolifération chez les obèses est soit sémi-laire (lymphocyte B) soit supérieure (lymphocyte T) à celle des témoins.

Pour les lymphocytes B :

- En présence de la LPS et l'insuline, l'huile de poisson induit une réduction significative du nombre de lymphocytes B, chez enfants témoins et obèses.
- L'huile d'olive et l'huile de nigelle provoquent une réduction moins prononcée de la prolifération des lymphocytes B, quelque soit le groupe d'enfants.

Pour les lymphocytes T :

- La prolifération de lymphocytes T stimulés par la Con A et l'insuline diminue significativement en présence de l'huile poisson chez les deux groupes d'enfants.
- L'huile d'olive et l'huile de nigelle semblent avoir un effet immunosuppresseur moins important que celui de l'huile de poisson.

III.2. Teneurs en protéines totales

III.2.1. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins (Figure 18 ; Tableau A7 en Annexes).

La prolifération des lymphocytes exprimée par le contenu des protéines des cellules ($\mu\text{g/puit}$) suit le même profil que celle exprimée par le nombre de cellules.

Pour les lymphocytes B :

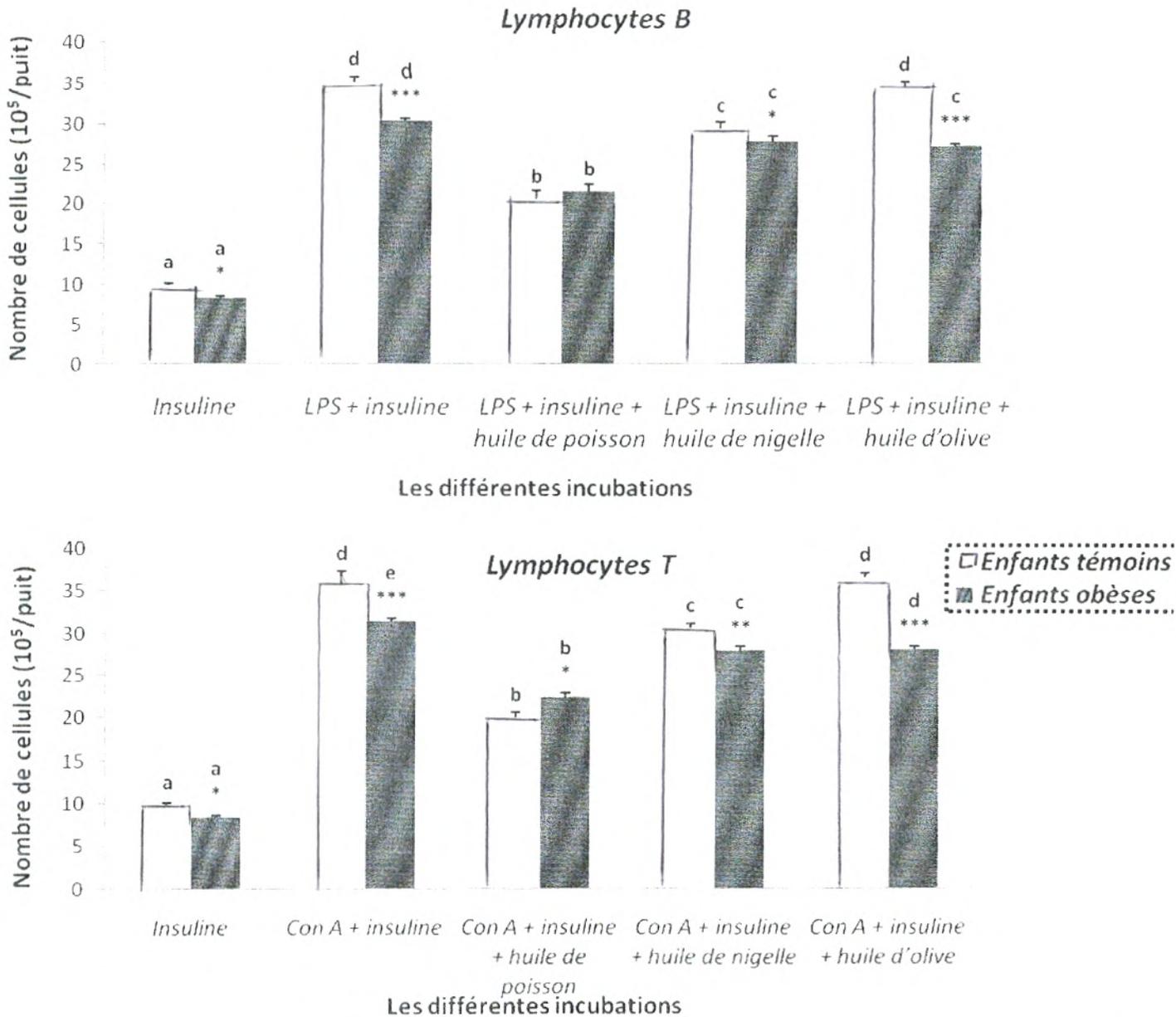


Figure 17: Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10⁵ / puits) en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c, d, e indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p < 0.05) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p < 0.05 ; ** p < 0.01 ; *** p < 0.001).

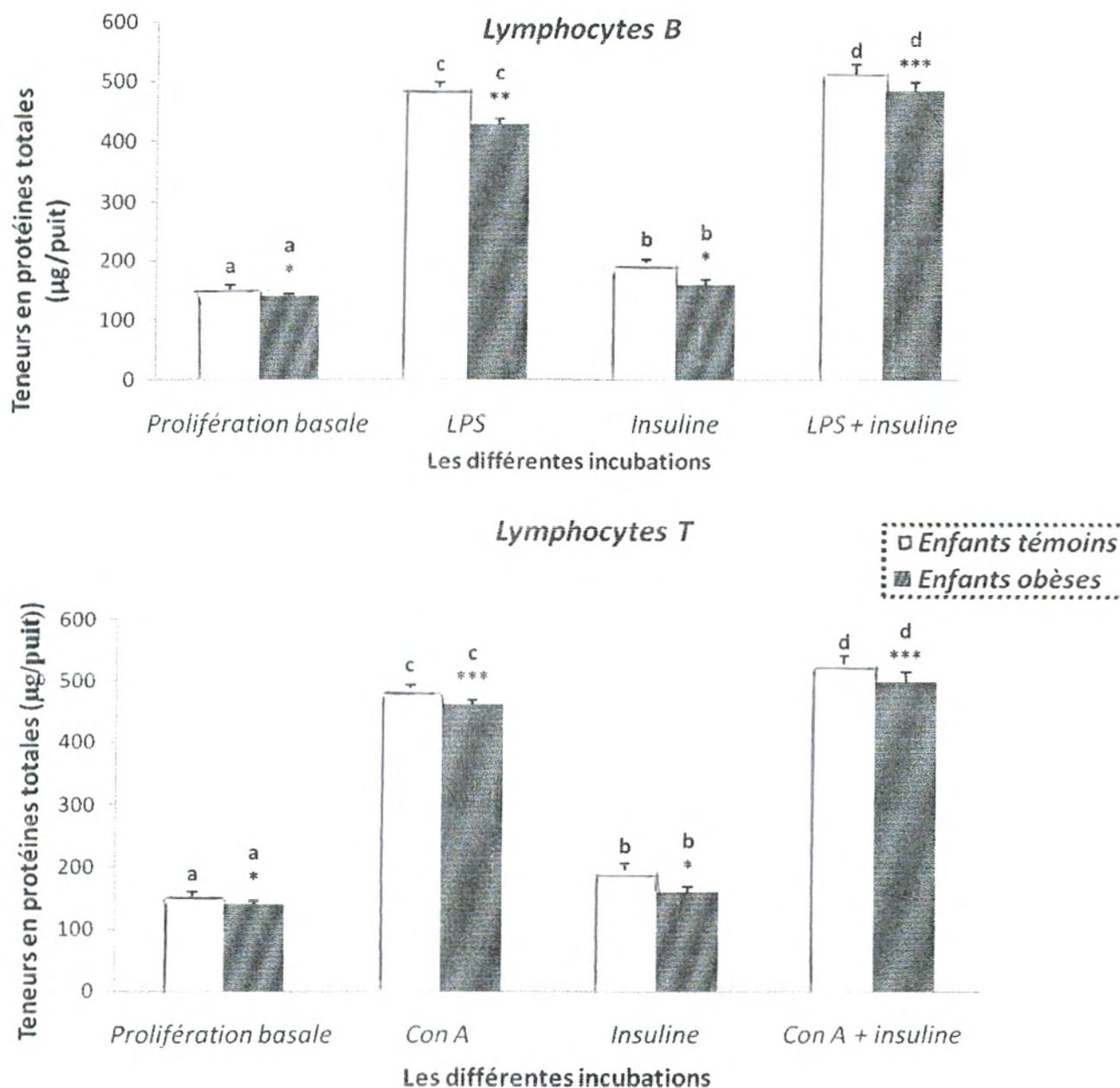


Figure 18 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Quelque soit l'incubation, les teneurs en protéines des lymphocytes B sont significativement réduites chez les enfants obèses comparés aux enfants témoins.

En présence de LPS, les teneurs en protéines sont 4 fois supérieures, chez les enfants obèses et témoins, marquant ainsi un effet stimulant de l'agent mitogène.

L'insuline potentialise l'effet de la LPS aussi bien chez les enfants obèses que chez les enfants témoins.

Pour les lymphocytes T :

Le contenu en protéines des lymphocytes T chez les enfants obèses est significativement plus faible par rapport à celui des lymphocytes T des enfants témoins.

La Con A augmente le taux de protéines chez les enfants obèses et témoins.

L'insuline potentialise l'effet de la Con A.

III.2.2. Teneurs en protéines totales des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles (Figure 19 ; Tableau A8 en Annexes).

L'huile de poisson induit une réduction des teneurs en protéines des lymphocytes chez les enfants témoins. Cependant, en présence d'huile d'olive et d'huile de nigelle, aucune différence significative n'est notée entre le contenu protéique des lymphocytes incubés avec ou sans ces deux huiles chez les enfants témoins.

Chez les enfants obèses, l'huile de poisson provoque une augmentation du contenu protéique des lymphocytes. De plus, la présence des huiles d'olive et de nigelle dans les milieux d'incubation n'affecte pas le contenu protéique lymphocytaire chez les obèses.

Les teneurs en protéines totales des lymphocytes sont significativement augmentées en présence de l'huile de poisson, et significativement diminuées en présence de l'huile d'olive, chez les enfants obèses comparés aux témoins.

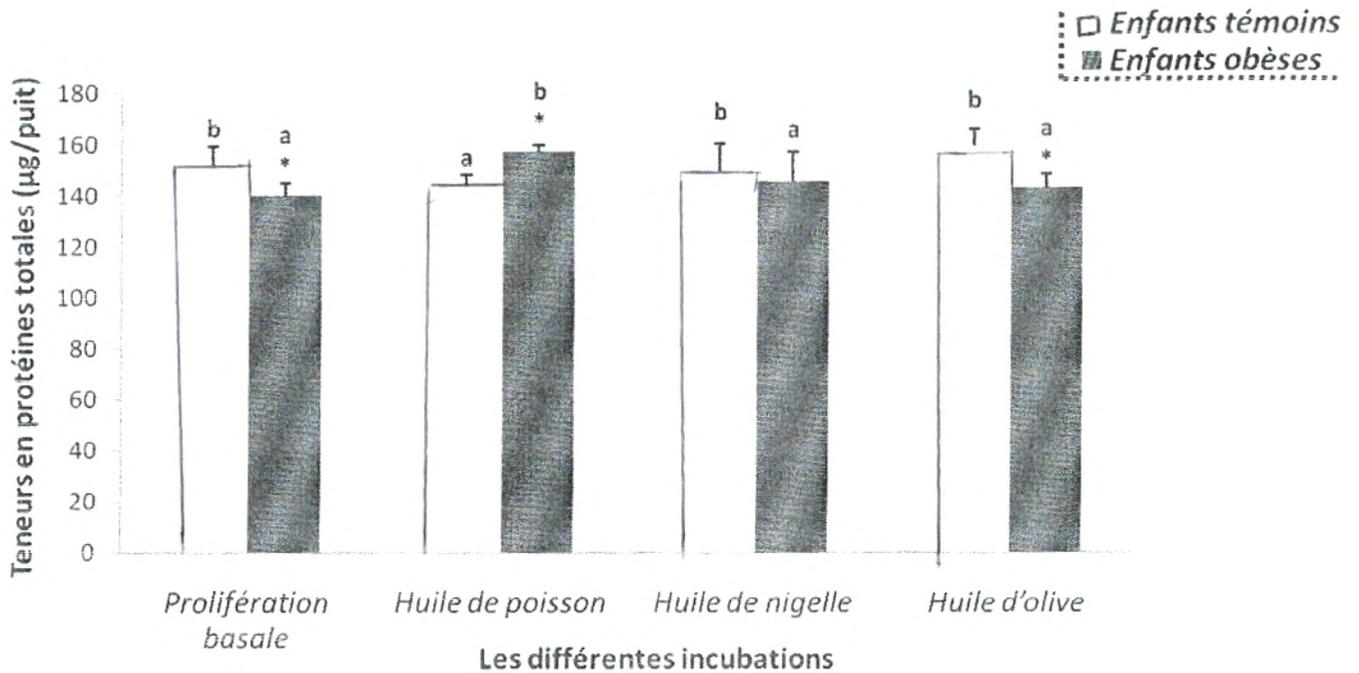


Figure 19 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

III.2.3. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins (Figure 20 ; Tableau A9 en Annexes).

En présence des agents mitogènes, les différentes huiles induisent une réduction significative du taux de protéines des lymphocytes T et B chez les enfants obèses et témoins.

L'huile de poisson diminue le contenu protéique des lymphocytes B et T de manière significative chez les enfants obèses et témoins.

L'huile d'olive et l'huile de nigelle ont un effet immunosuppresseur moins important que celui de l'huile de poisson chez les enfants obèses et témoins.

Les teneurs en protéines des lymphocytes B et T sont significativement faibles chez les enfants obèses comparés aux témoins sauf en présence de l'huile de poisson où le contenu protéique lymphocytaire est plus important chez les obèses.

III.2.4. Teneurs en protéines totales des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins (Figure 21 ; Tableau 10 en Annexes).

Chez les enfants témoins, le contenu protéique des lymphocytes stimulés par l'agent mitogène (LPS ou Con A) et l'insuline est significativement réduit par la présence de l'huile de poisson et l'huile de nigelle. L'effet de l'huile d'olive est non significatif dans ce cas.

Chez les enfants obèses, les trois huiles induisent une réduction des teneurs en protéines des lymphocytes stimulés.

En présence des agents mitogènes et /ou des huiles d'olive et de nigelle, le contenu protéique lymphocytaire est significativement diminué chez les obèses comparés aux témoins. L'huile de poisson normalise ce contenu protéique chez les enfants obèses.

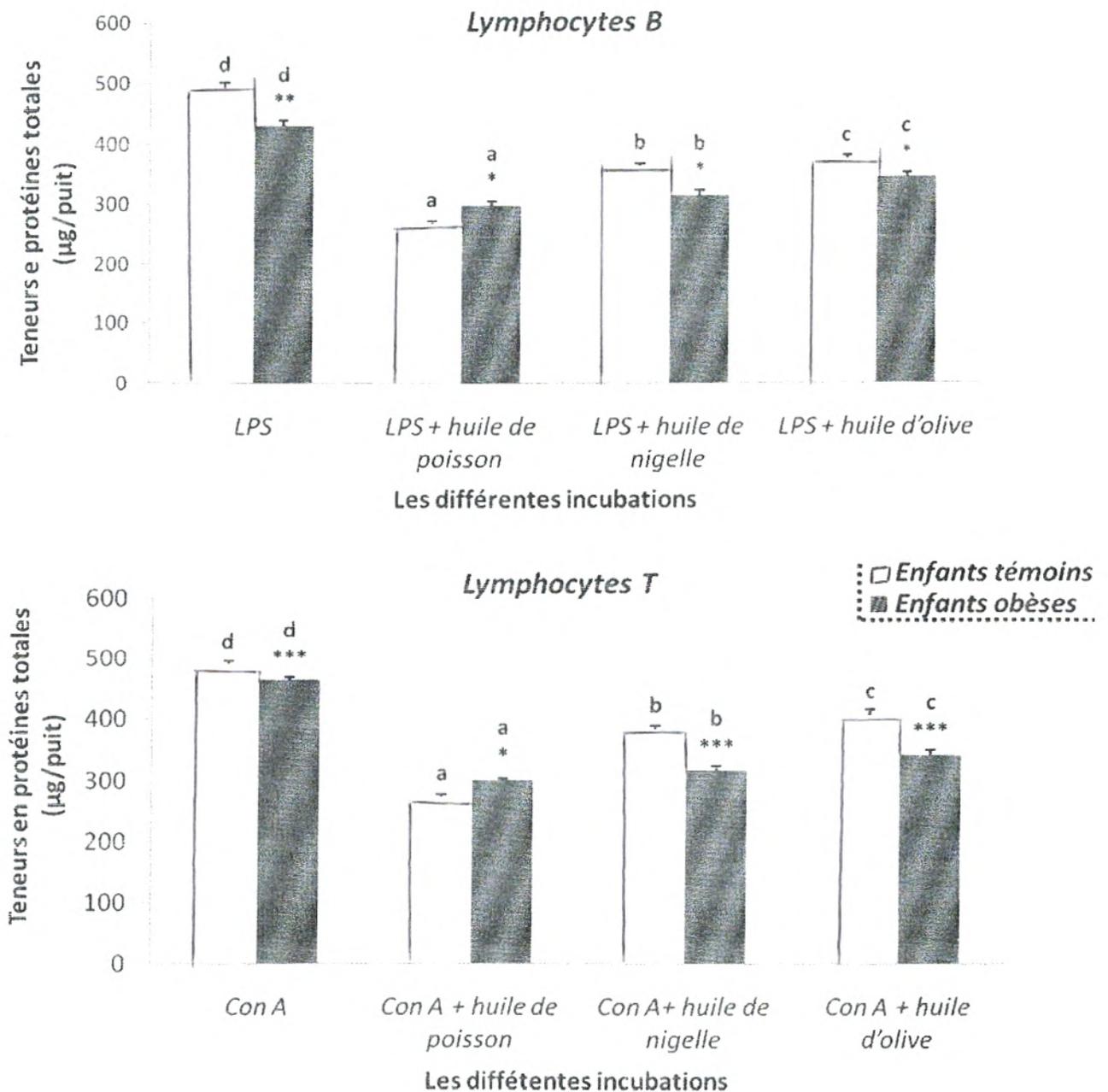


Figure 20 : Teneurs en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

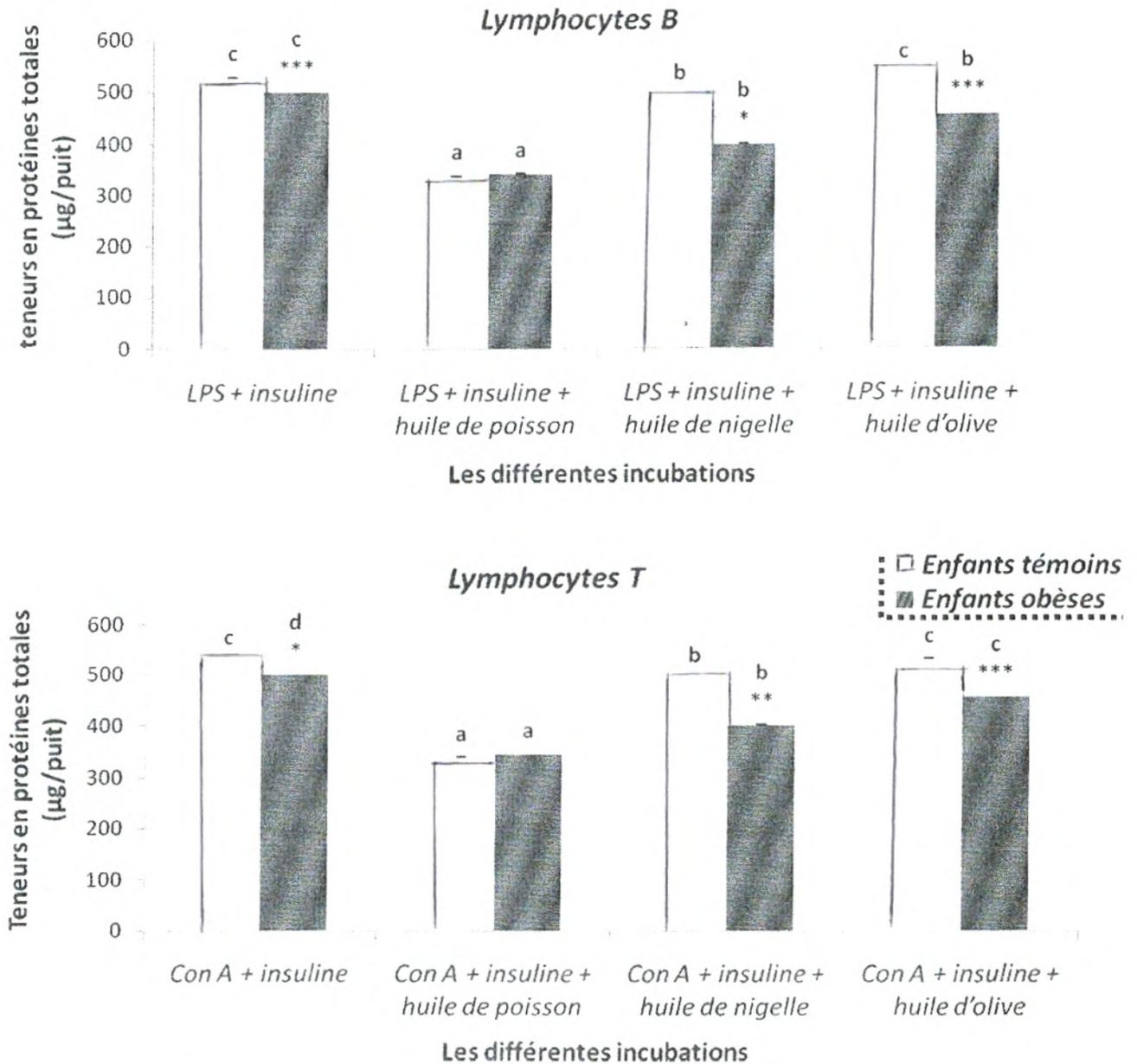


Figure 21 : Teneur en protéines totales (en µg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

III.3. Teneurs en interleukines

III.3.1. Production d'interleukines 2 (IL-2) par les lymphocytes T isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-2, Pg / ml) (figures 22- 23 ; Tableau A11 en Annexes).

Avant la stimulation par l'agent mitogène Con A, la production des interleukines 2 (IL-2) est faible chez les deux groupes d'enfants. Aucune différence significative entre les enfants obèses et leurs témoins n'est notée (Figure 21).

La présence de la Con A induit une stimulation de la production de l'IL-2 par les lymphocytes chez les enfants obèses et témoins (entre 5 et 10 fois plus). Un supplément d'insuline potentialise l'effet de la Con A où une augmentation de la production d'IL-2 est observée chez les deux groupes d'enfants (Figure 21).

La production d'IL-2 par les lymphocytes T stimulés est réduite chez les obèses comparés aux témoins. L'addition des huiles (poisson, nigelle, olive) induit une diminution significative d'IL-2 chez les enfants témoins (Figure 22). L'effet est très marqué en cas d'huile de poisson.

La production des interleukines 2 (IL-2) par les lymphocytes T stimulés est significativement abaissée chez les enfants obèses par l'huile de poisson, mais reste inchangée en présence des huiles d'olive et de nigelle (Figure 22).

En présence d'huile d'olive et de nigelle, la production d'IL-2 par les lymphocytes T stimulés reste toujours inférieure chez les obèses comparés aux témoins. Cependant, en présence d'huile de poisson, elle devient importante chez les obèses en comparaison aux valeurs témoins.

III.3.2. Production d'interleukines 6 (IL-6) par les lymphocytes B isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-6, Pg / ml) (figures 24- 25 ; Tableau A12 en Annexes).

La production des interleukines 6 (IL-6) par les lymphocytes B des enfants obèses et témoins augmentent de manière nette et significative en présence de l'agent mitogène LPS par rapport à l'incubation initiale (sans l'agent mitogène) (Figure 23).

L'ajout de l'insuline en présence la LPS induit de manière encore plus prononcée l'augmentation d'IL-6 chez les enfants obèses et témoins (Figure 23).

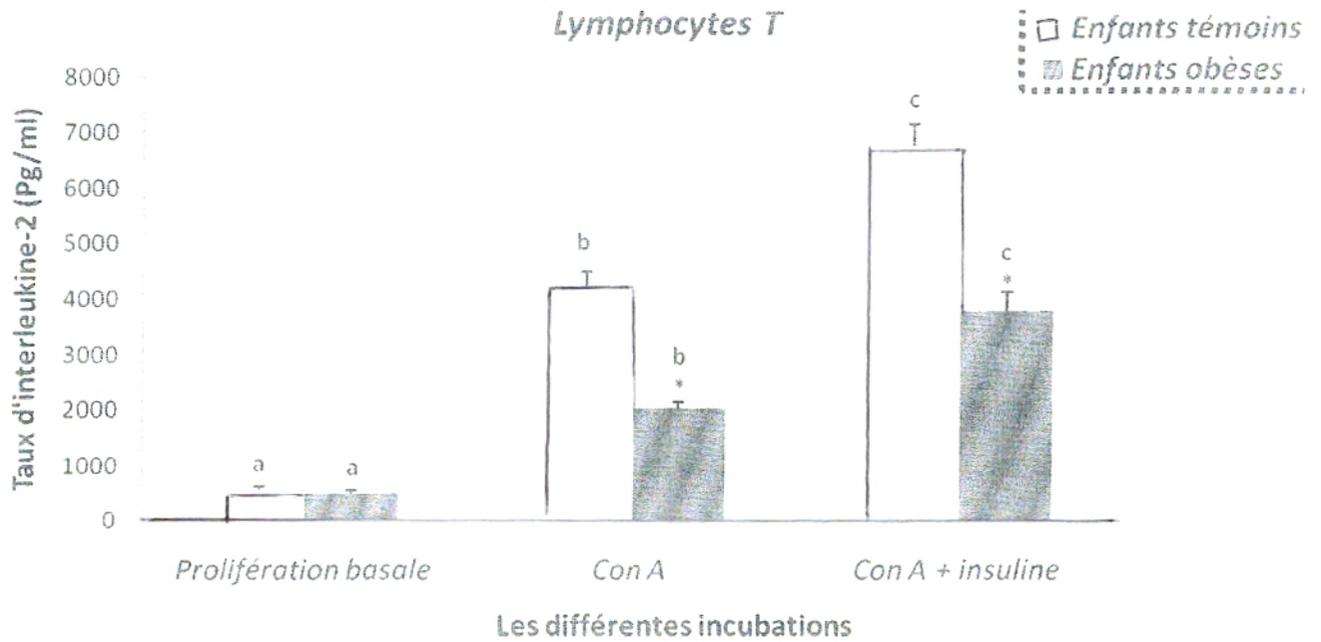


Figure 22 : Taux d'interleukine-2 (IL-2) en Pg/ml produite en prolifération basale, en présence de la Con A et d'insuline.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

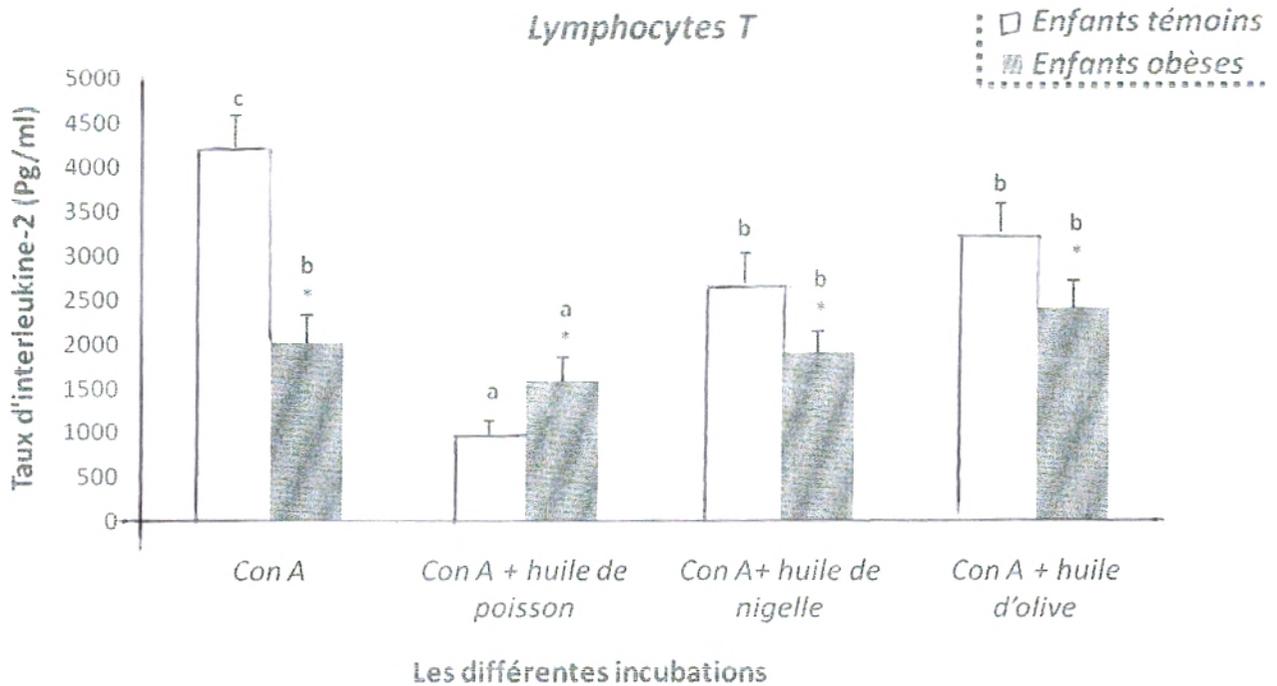


Figure 23 : Taux d'interleukine-2 (IL-2) en Pg/ml produite par les lymphocytes T stimulés en présence des huiles.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

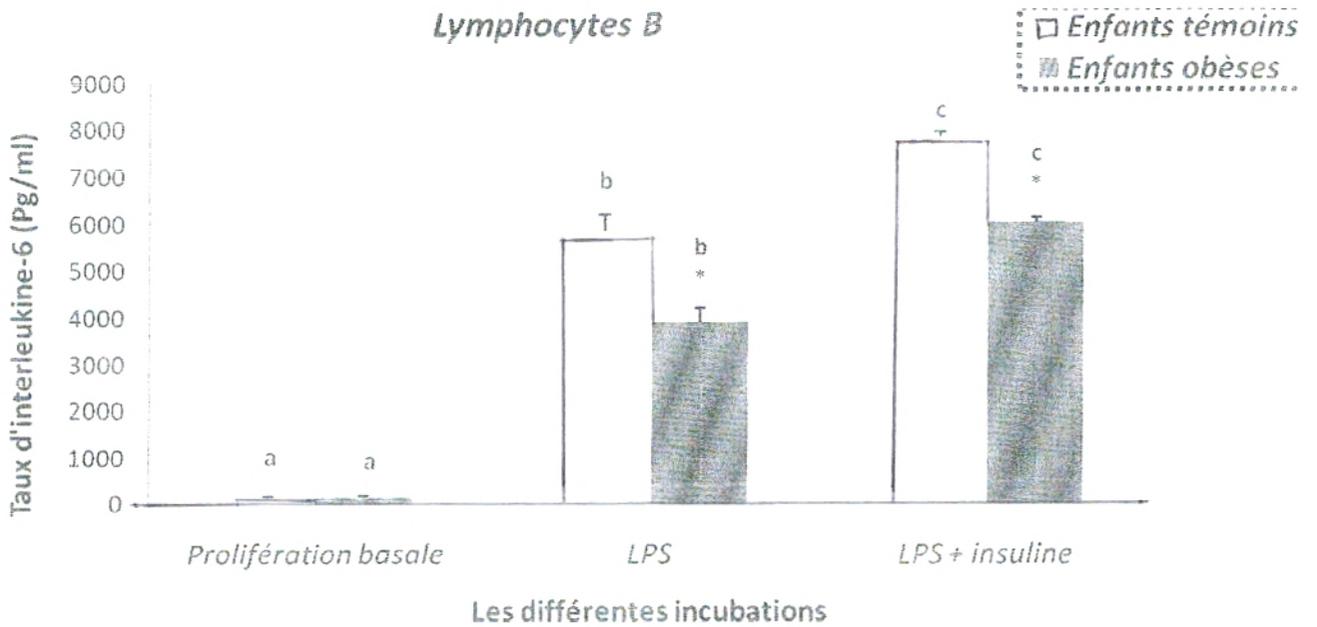


Figure 24 : Taux d'interleukine-6 (IL-6) en Pg/ml produite en prolifération basale, en présence de la LPS et de l'insuline.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

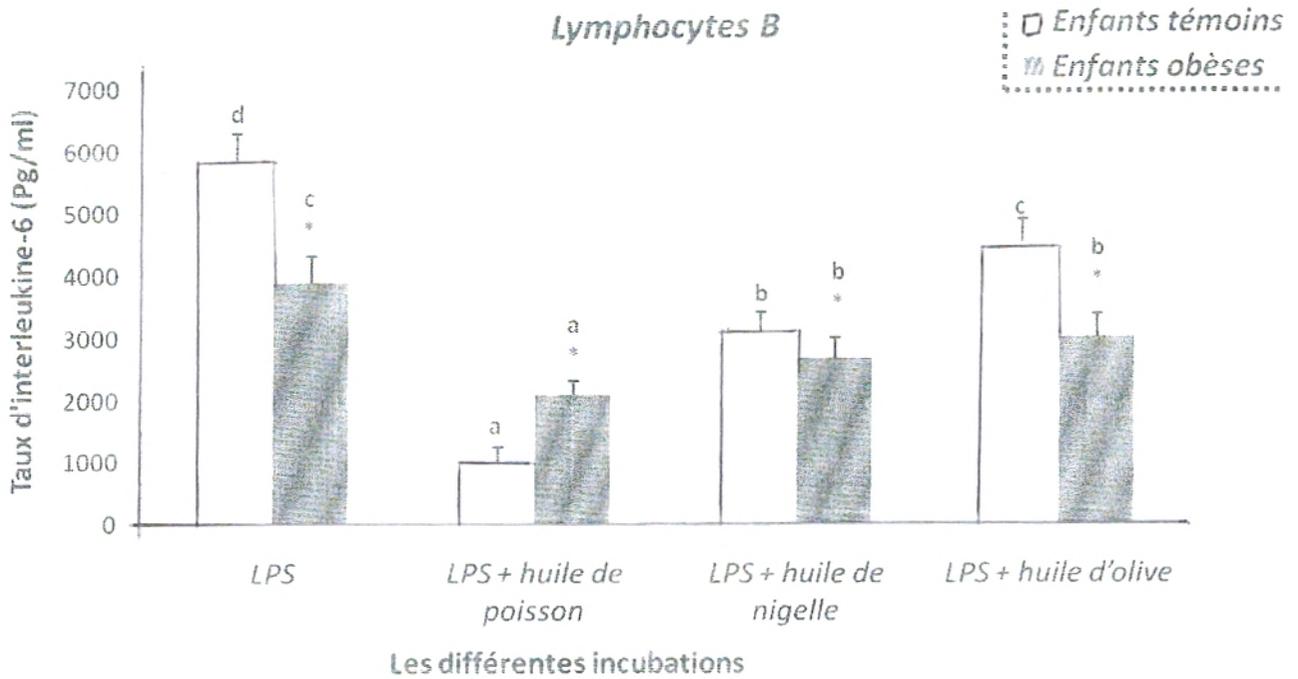


Figure 25 : Taux d'interleukine-6 (IL-6) en Pg/ml produite par les lymphocytes B stimulés en présence des huiles.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Les trois huiles utilisées réduisent la production des IL-6 par les lymphocytes B stimulés aussi bien chez les témoins que les obèses (Figure 24).

L'huile de poisson semble être la plus efficace. La production d'IL-6 par les lymphocytes B stimulés des obèses est plus faible chez les enfants obèses comparés aux témoins, en présence des huiles d'olive et de nigelle. Cependant, en présence d'huile de poisson, les taux d'IL-6 sécrétés par les lymphocytes B des obèses sont plus élevés que ceux des témoins (Figure 24).

III.4. Composition en acides gras des phospholipides membranaires

III.4.1. Composition initiale en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), isolés des enfants obèses et témoins (Figures 26-28 ; Tableau A13 en Annexes).

Les enfants obèses montrent une augmentation significative du pourcentage en acides gras saturés (AGS) dûe à celle du pourcentage en C16 : 0 (Figure 25 et Tableau A13 en Annexes) et une réduction significative du pourcentage en acides gras polyinsaturés (AGPI) dûe à celle du pourcentage en C20 : 4 comparés aux témoins (Figure 26).

Les taux en C20 : 5 n-3 et C22 : 6 n-3 chez les enfants obèses sont similaires à ceux des témoins (Figure 27).

III.4.2. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après stimulation par la Con A (Figures 26-28 ; Tableaux A14 et A16 en Annexes).

L'incubation en présence de la Con A entraîne une diminution des pourcentages en C16 : 0 et en C18 : 2n-6, et une augmentation du C18 : 1 par rapport à la composition basale, ceci chez les enfants obèses et témoins (Figure 25 et Tableau A14 en Annexe). Les mêmes variations sont observées en présence de la LPS (Tableau A15 en Annexes).

En présence d'insuline dans le milieu d'incubation, la composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes ne diffère pas de celle des lymphocytes en présence de la Con A seule (Tableau A16 en Annexe). L'insuline ne modifie pas aussi la composition en acides gras des lymphocytes stimulés par la LPS (Tableau A17 en Annexe).

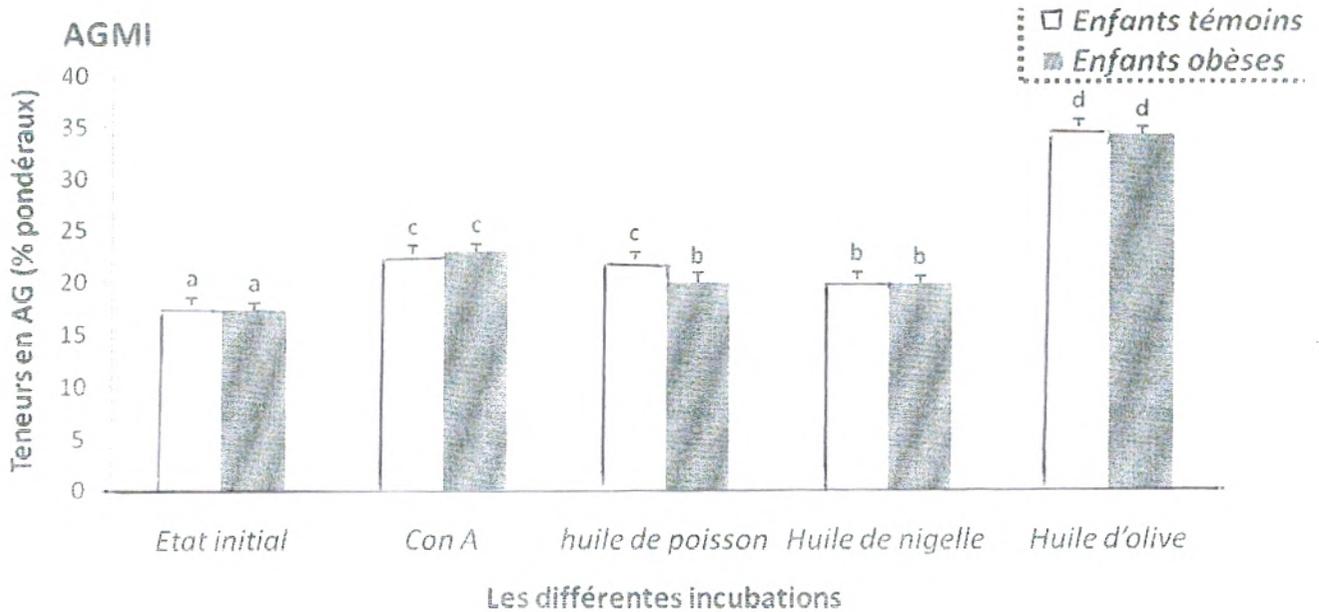
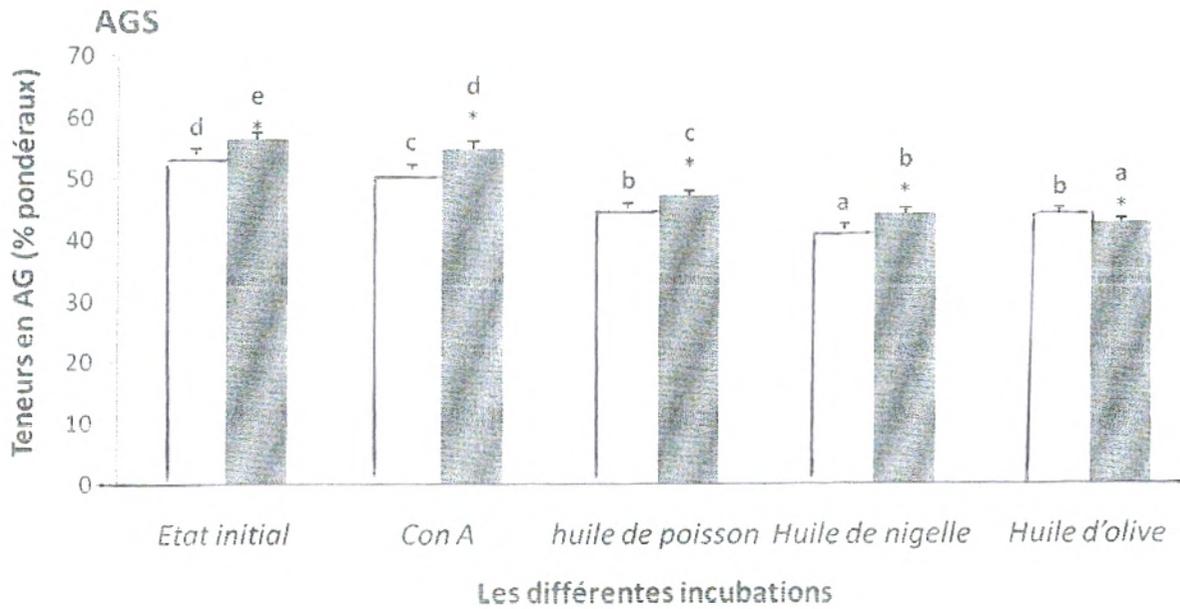


Figure 26 : Composition en acides gras saturés (AGS : 16 : 0 et 18 : 0) et monoinsaturés (AGMI : 16 : 1 et 18 : 1) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d, e indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

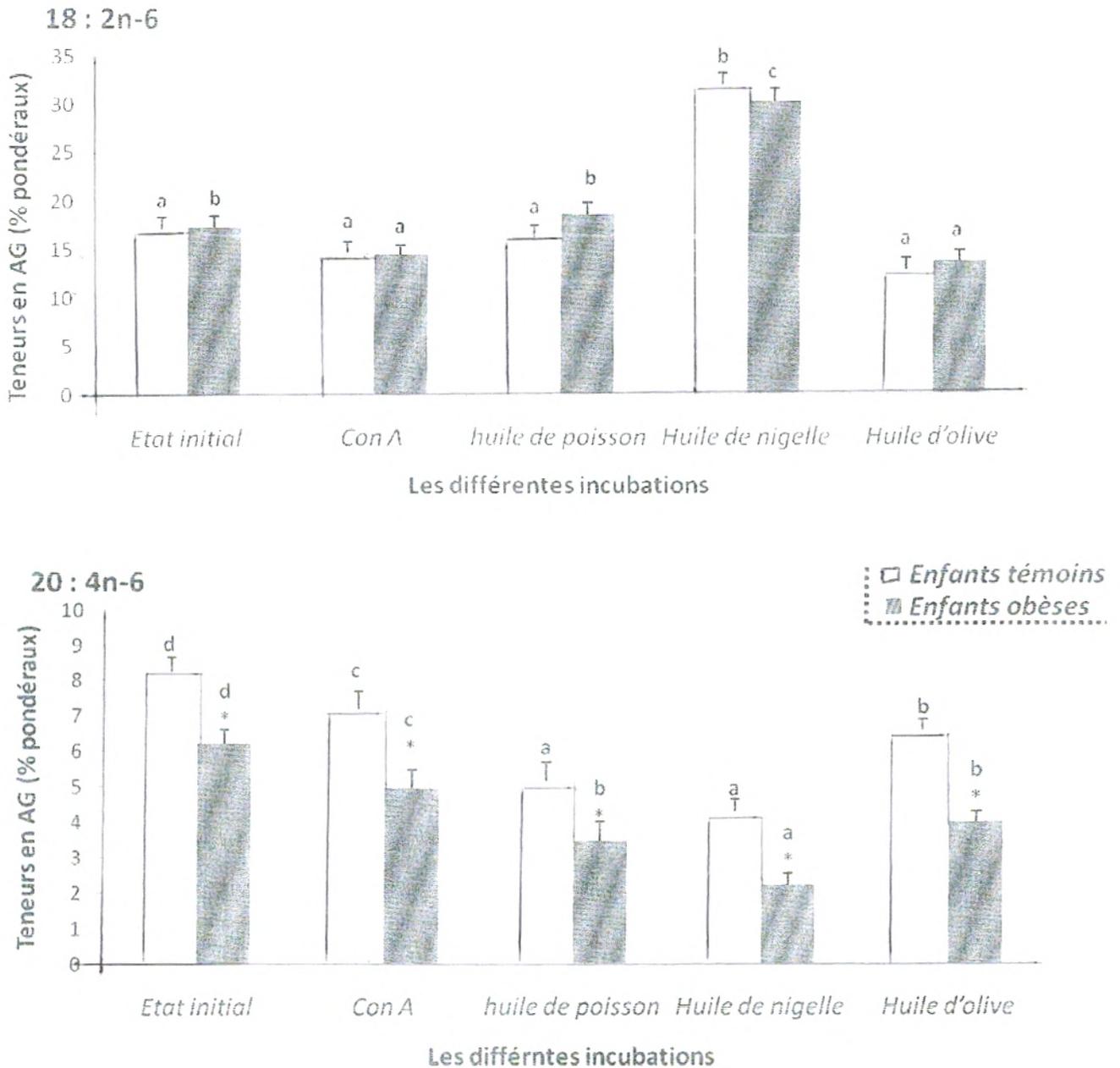


Figure 27 : Composition en acide linoléique (18 : 2 n-6) et en acide arachidonique (20 : 4 n-6) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

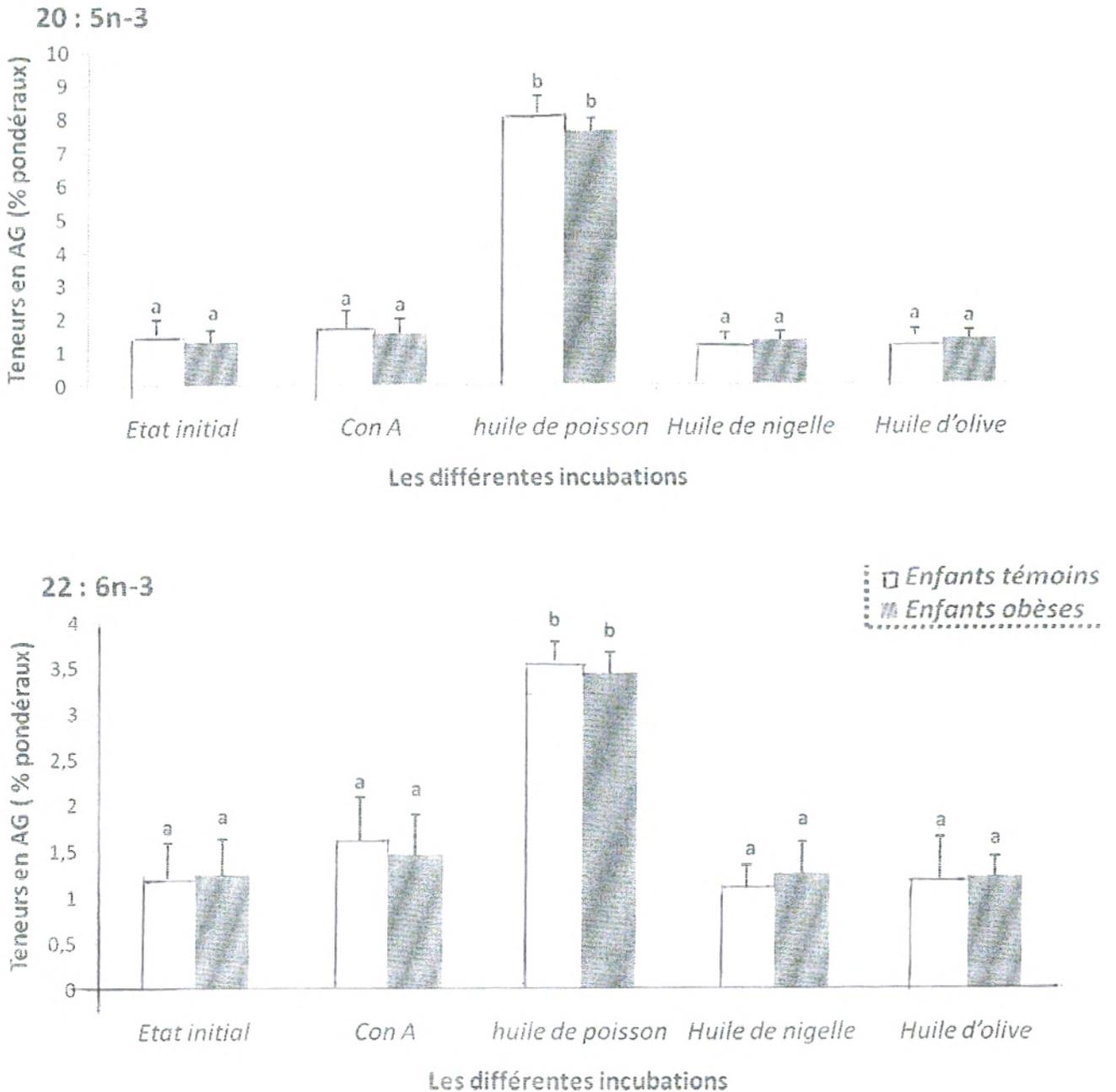


Figure 28 : Composition en DHA (20 : 5 n-3) et en EPA (22 : 6 n-3) des phospholipides des membranes lymphocytaires à l'état initial, en présence de la Con A et de différentes huiles.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Les variations entre enfants obèses et témoins restent parallèles à celles observées à l'état initial. En effet, une augmentation du pourcentage du C16 : 0 ainsi qu'une réduction du pourcentage en C20 : 4 sont notées comparées aux valeurs de leurs témoins respectifs.

III.4.3. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile de poisson (Figures 26-28 ; Tableaux A18-22 en Annexes).

L'incubation en présence de l'huile de poisson entraîne une augmentation de la proportion en EPA (C20 : 5 n-3) et en DHA (C22 : 6 n-3) et une réduction en acide arachidonique (C20 : 4 n-6) par rapport à la composition en acides gras initiale (Tableau A18) obtenue après incubation avec la Con A (Tableau A19) ou la LPS seule (Tableau A20), chez toutes les populations étudiées. La présence de l'insuline dans le milieu d'incubation ne modifie pas les effets des différentes huiles sur la composition en acides gras membranaires (Tableaux A21 et A22).

III.4.4. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile de nigelle (Figures 26-28 ; Tableau A18-22 en Annexes).

La présence de l'huile de nigelle dans le milieu d'incubation entraîne une augmentation de la proportion en acide linoléique (C18 : 2n-6) et une réduction de l'acide arachidonique (C20 : 4 n-6) par rapport à la composition en acides gras initiale (Tableau A18) ou après incubation avec la Con A (Tableau A19) ou la LPS seule (Tableau A20), chez toutes les populations étudiées.

III.4.5. Composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes (pourcentages pondéraux), après incubation en présence de l'huile d'olive (Figures 26-28 ; Tableau A18-22 en Annexes).

L'incubation en présence de l'huile d'olive entraîne une augmentation de la proportion en acide oléique (C18 : 1n-9) par rapport à la composition en acides gras initiale (Tableau A18) ou en présence de la Con A (Tableau A19) ou la LPS seule (Tableau A20).

IV. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des lymphocytes

IV.1. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses (Figure 29 ; Tableau A23 en Annexes).

Une augmentation nette et significative des teneurs en MDA des lymphocytes est notée chez les enfants obèses comparés aux témoins quelque soit l'incubation.

Les lymphocytes stimulés par l'agent mitogène (Con A ou LPS) ont des teneurs plus élevées en MDA par rapport aux lymphocytes des puits non stimulés chez les deux groupes d'enfants.

Les teneurs en MDA des lymphocytes T et B sont significativement augmentées en présence des différentes huiles (poisson, olive, nigelle) chez les enfants obèses et témoins.

IV.2. Teneurs en hydroperoxydes des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses (Figure 30 ; Tableau A24 en Annexes).

Les teneurs en hydroperoxydes des lymphocytes T et B sont significativement augmentées chez les enfants obèses comparés aux enfants témoins.

L'agent mitogène (Con A ou LPS) induit une augmentation significative des teneurs en hydroperoxydes des lymphocytes T et B chez les enfants obèses et témoins.

L'augmentation des teneurs en hydroperoxydes des lymphocytes T et B est majorée par la présence des huiles dans le milieu d'incubation.

En présence de l'huile de poisson, les taux en hydroperoxydes chez les enfants obèses sont similaires à ceux des témoins. Cependant, en présence des huiles d'olive et de nigelle, les hydroperoxydes sont plus élevés au niveau des lymphocytes des obèses comparés aux témoins.

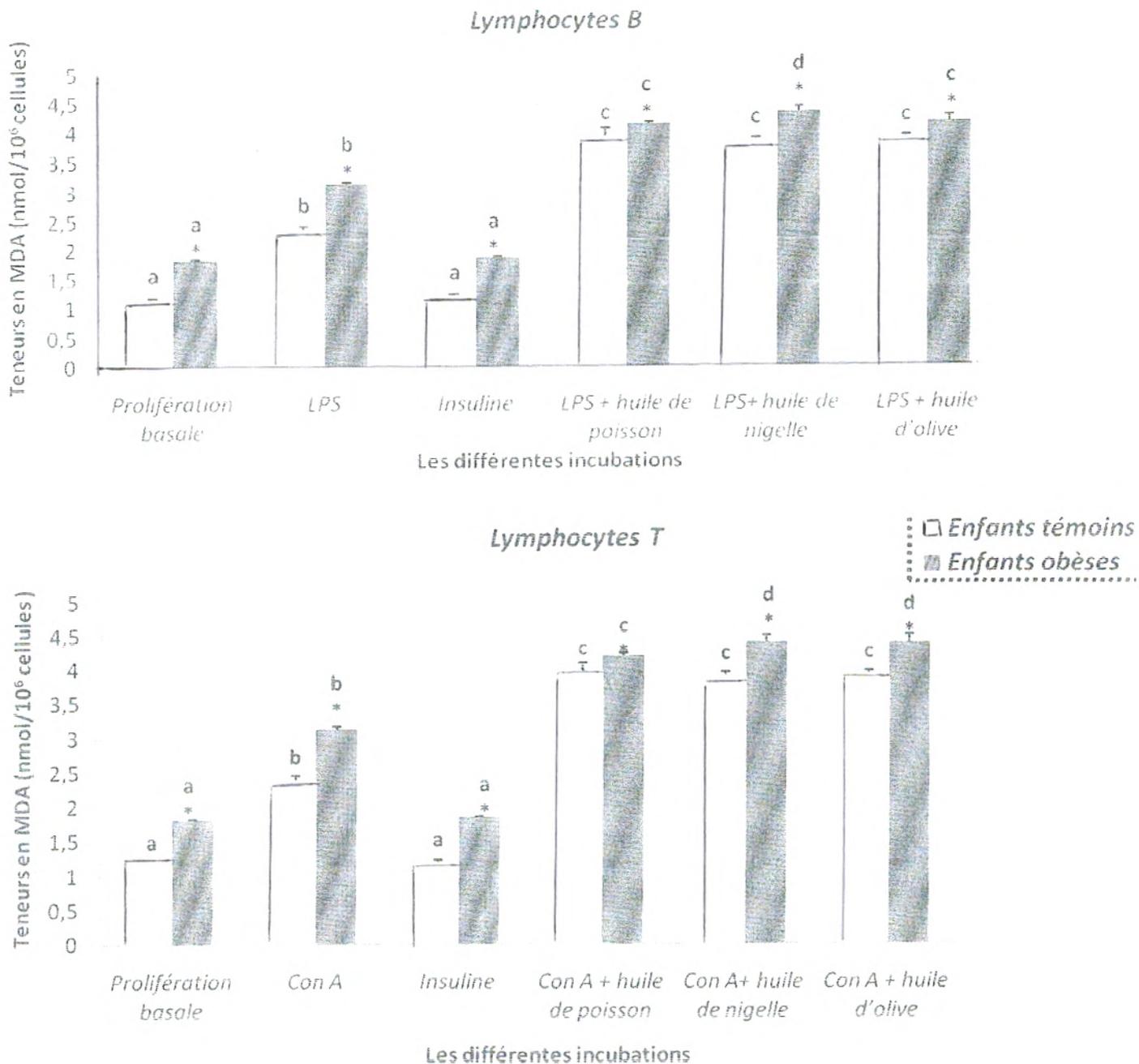


Figure 29: Teneurs en malondialdéhyde (MDA, nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test «t» de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

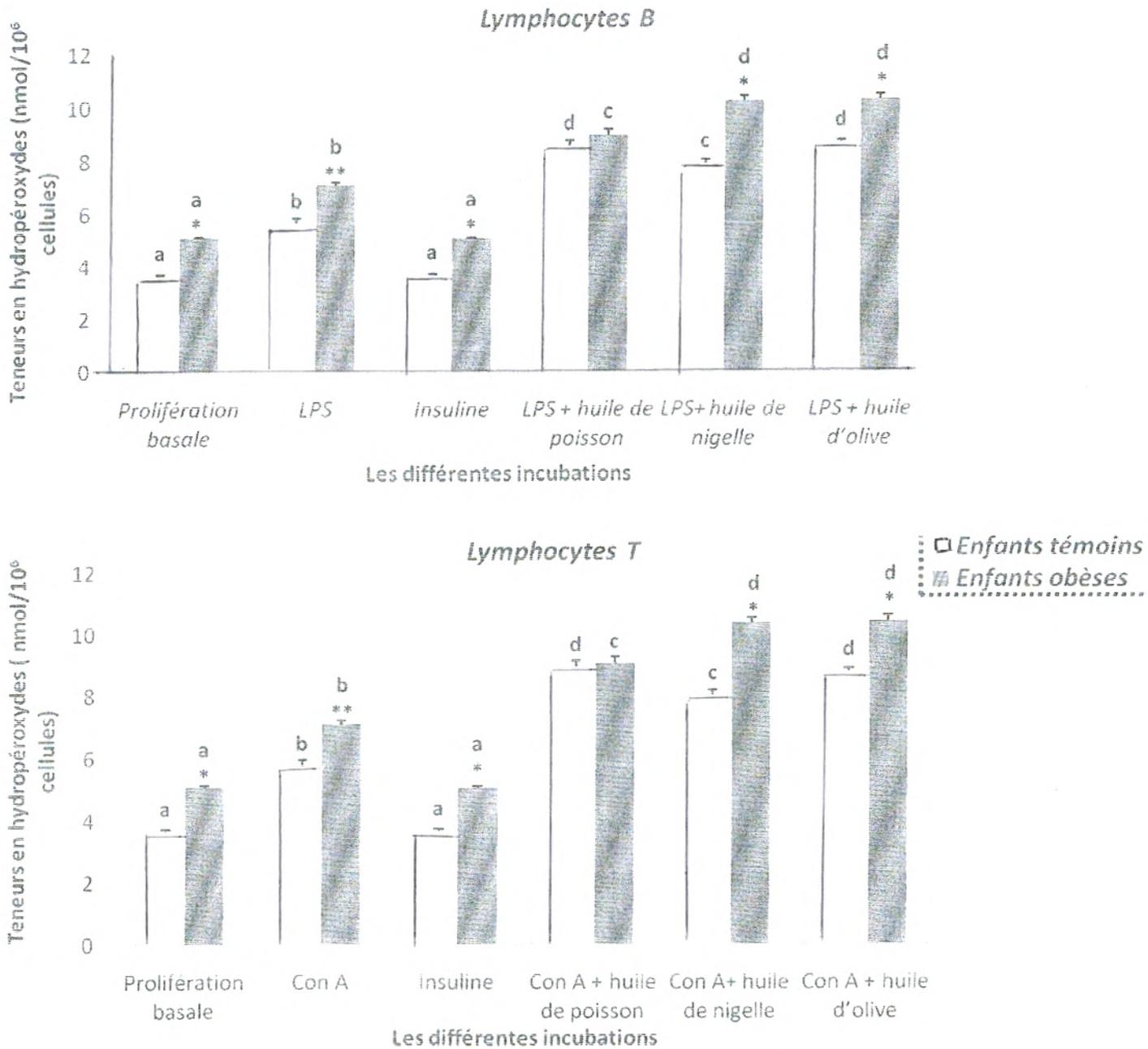


Figure 30 : Teneurs en hydroperoxydes (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

IV.3. Teneurs en protéines carbonylées des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses (Figure 31 ; Tableau A25 en Annexes).

Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées des lymphocytes T et B est notée chez les enfants obèses comparés aux témoins.

En présence des huiles, particulièrement l'huile de poisson, on note une diminution des teneurs en protéines carbonylées des lymphocytes T et B chez les enfants obèses et témoins. En présence de l'huile de poisson, les protéines carbonylées lymphocytaires chez les obèses deviennent similaires à celle des témoins.

IV.4. Activité de la catalase intracellulaire des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses (Figure 32 ; Tableau A26 en Annexes).

Une diminution significative de l'activité de l'enzyme catalase des lymphocytes stimulés par les agents mitogènes (Con A, LPS) et l'insuline, est notée chez les enfants obèses comparés aux témoins.

La présence des huiles (poisson, nigelle, olive) n'affecte pas l'activité catalase au niveau des lymphocytes des enfants témoins. Cependant, ces trois huiles induisent une stimulation de l'activité catalase au niveau des lymphocytes des enfants obèses. De plus, en présence de ces huiles, l'activité de la catalase lymphocytaire chez les obèses est similaire à celle des témoins.

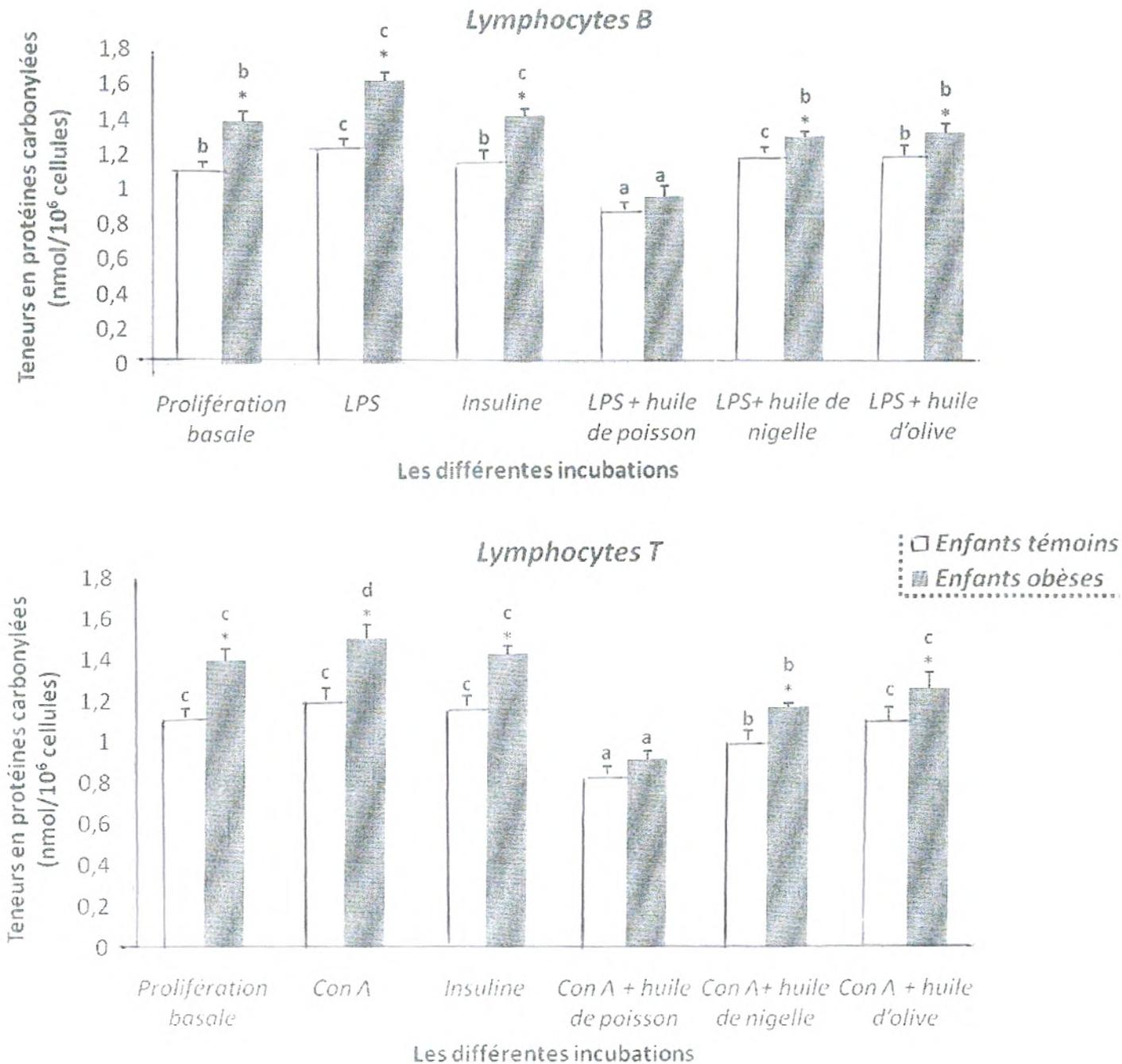


Figure 31 : Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

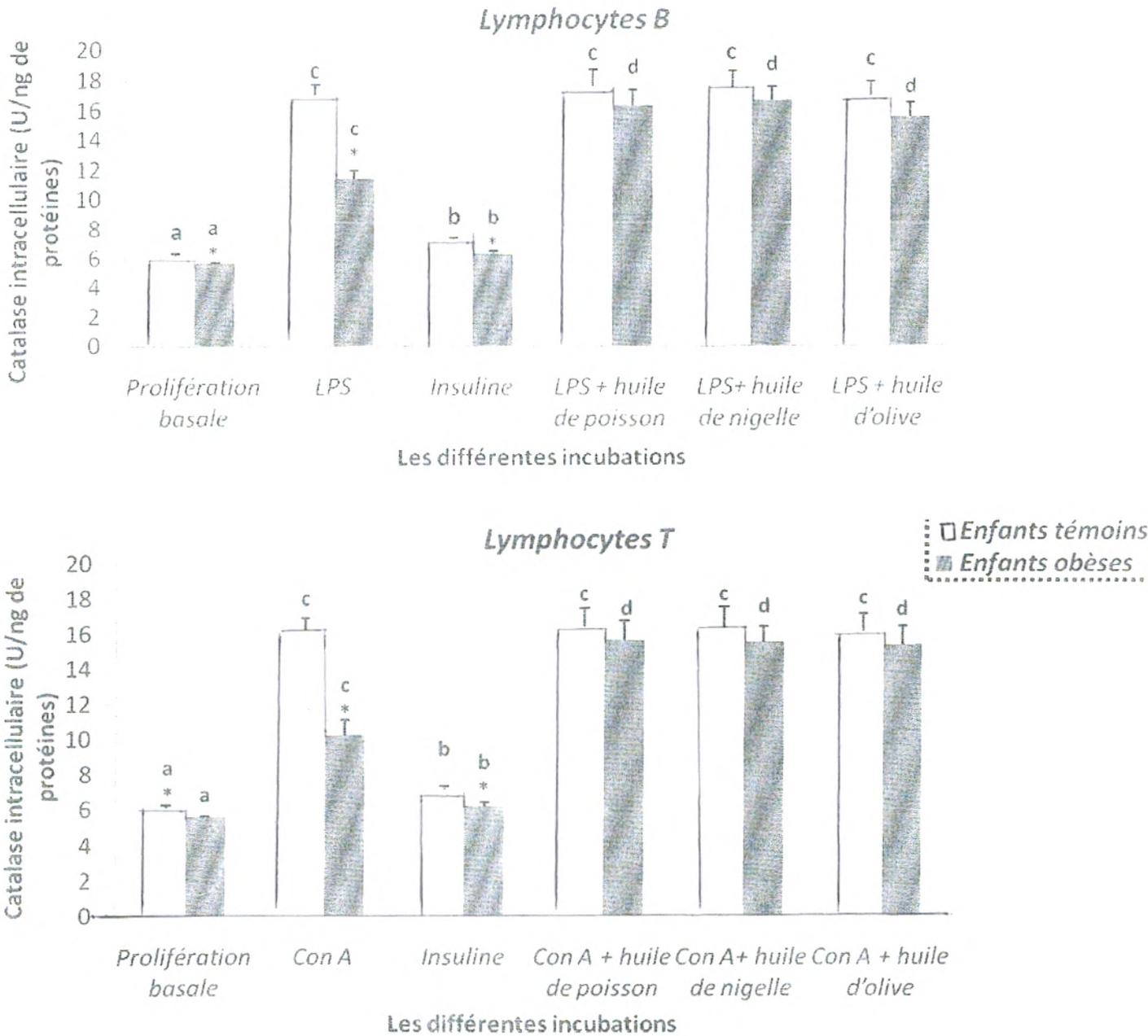


Figure 32 : Activité de la catalase intracellulaire (U/ng de protéines) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ET. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Discussion

L'obésité et le surpoids sont fréquemment associés à des altérations du système immunitaire. Le taux de maladies infectieuses est élevé chez les obèses (Fève et al., 2006). Il y a chez l'obèse une diminution de l'activité des lymphocytes T, de la prolifération lymphocytaire et des réactions d'immunité retardée. On observe aussi une réduction de la production d'anticorps et de l'activité des cellules tueuses ("Natural killers"). De nombreux déficits nutritionnels y participent à ces altérations, parmi lesquels la baisse des stocks cellulaires en vitamines, minéraux métaux lourds et acides gras essentiels de l'organisme (Lamas et al., 2002).

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

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

De nombreux travaux effectués *in vitro* ont permis de mettre en évidence un effet immunomodulateur des acides gras ajoutés au milieu de culture des lymphocytes avant stimulation par un mitogène. Tsang (1977) fut le premier à décrire l'effet immunosuppresseur de l'acide linoléique. Depuis cette date, de nombreux travaux ont montré que les acides gras polyinsaturés inhibaient *in vitro* les fonctions des lymphocytes humains et murins (Verlengia et al., 2004).

Des résultats contradictoires ont été obtenus concernant l'influence des acides gras sur la réponse proliférative des lymphocytes *in vitro*. En règles générales, les études décrivant une stimulation de la réponse ont utilisé de faibles doses alors que celles, beaucoup plus nombreuses, qui rapportent un effet inhibiteur, ont été réalisées avec des concentrations en acides gras plus élevées. Les acides gras les plus inhibiteurs sont généralement ceux de la famille n-3 alors que les acides gras saturés sont peu ou pas actifs (Calder et al., 2002 a).

L'utilisation des acides gras exogènes polyinsaturés de la famille n-3 a des effets suppressifs et peut en occurrence affecter un grand nombre de paramètres immuns, tels que la prolifération des lymphocytes, la synthèse des cytokines, l'activité des cellules NK, la phagocytose....etc. L'immunomodulation induite peut être appliquée dans l'amélioration des désordres inflammatoires, comme les maladies auto-immunes, pourtant, les mécanismes participants à ces processus ne sont pas encore bien compris. Il est probable que la modulation du système immunitaire par les acides gras polyinsaturés peut avoir lieu par l'altération de la fluidité membranaire, la formation de peroxyde lipidique, la libération du calcium, la production des eicosanoïdes ou la régulation de l'expression génique (Pablo et al., 2000).

Les acides gras agissent aussi sur les médiateurs inter et intracellulaires. Les acides gras polyinsaturés n-6 ont des effets à la fois suppressifs et stimulants. Le plus étudié est l'acide arachidonique qui peut être oxydé en eicosanoïdes, comme les prostaglandines, leukotriènes et thromboxane qui sont des médiateurs potentiels d'inflammation. Néanmoins, beaucoup d'effets des acides gras polyinsaturés sur les réponses immunitaires et inflammations ne dépendent pas de la génération des eicosanoïdes. Les acides gras modulent aussi les migrations des leucocytes et ils interviennent dans la présentation de l'antigène aux macrophages. L'importance des acides gras sur la fonction immunitaire a également été corroborée par plusieurs essais cliniques qui démontrent une nette amélioration chez les patients soumis aux acides gras (Pompia et al., 2000).

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

Notre étude est réalisée sur les lymphocytes d'enfants témoins et obèses cultivés *in vitro* en présence ou en absence de différentes huiles alimentaires afin de déterminer les anomalies de la fonction lymphocytaire au cours de l'obésité, et les effets des acides gras polyinsaturés (AGPI) sur la prolifération des lymphocytes T et B, la composition en acides gras de leurs membranes, la sécrétion des interleukines 2 et 6, et la variation de quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant cellulaire.

Dans ce travail, la prolifération des lymphocytes *in vitro* est déterminée par le comptage des cellules et par le dosage des protéines totales.

Les huiles alimentaires testées sont : l'huile de poisson riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) dont les plus importants sont l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), l'huile d'olive riche en acide oléique, et l'huile de nigelle riche en acide linoléique et oléique.

Notre protocole expérimental nous permet donc de déterminer le rôle potentiel des différents acides gras (AGMI, AGPI n-6 et AGPI n-3) sur les fonctions immunes et la balance intracellulaire oxydante/antioxydante, chez les enfants en bonne santé et chez les enfants obèses de la région de Tlemcen.

Nos résultats montrent une augmentation du nombre de lymphocytes monocytes et de polynucléaires chez les enfants obèses par rapport aux enfants témoins.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études qui montrent que l'obésité est associée à un état inflammatoire chronique qui se caractérise par une augmentation du nombre de la plupart des cellules immunitaires circulantes (Zaldivar et al., 2006 ; Nieman et al., 1999).

D'autres études ont permis l'identification de marqueurs biologiques d'un état inflammatoire aigu chez les obèses. Ces marqueurs précoces entreraient dans la physiopathologie de l'obésité et de l'insulino-résistance conduisant au syndrome métabolique. La production de médiateurs inflammatoires serait liée aux anomalies des adipocytes et des hépatocytes, siège d'une infiltration des macrophages (Cai et al., 2005).

D'après nos résultats, les taux de globules rouges sont élevés chez les enfants obèses comparés aux témoins, alors que le taux d'hémoglobine reste normal. Ces résultats sont en faveur de l'existence d'une fausse polyglobulie chez les enfants obèses. La fausse polyglobulie appelée aussi pseudoglobulie de stress est bien connue chez les personnes obèses, secondaire à une hémococoncentration (Zandecki, 2006).

Nos résultats montrent également que la prolifération des lymphocytes à l'état basal ou stimulée par l'agent mitogène (Con A ou LPS), est significativement plus faible chez les enfants obèses comparés aux enfants témoins.

Plusieurs études ont montré que les obèses avaient une faible réponse proliférative via les agents mitogènes (Moriguchi et al., 1998 ; Schauenstein et al., 1995 ; Nieman et al 1999).

La réduction de la prolifération in vitro des lymphocytes stimulés par l'agent mitogène (Con A ou LPS) chez les enfants obèses peut être le résultat d'une altération des fonctions lymphocytaires T et B due à un déficit nutritionnel.

La réduction de la prolifération des lymphocytes observée chez les enfants obèses peut être liée en partie à un état d'insulinorésistance, puisque l'insuline module la différenciation des cellules et la prolifération lymphocytaire (Saltiel, 1990). De plus, nos résultats montrent que l'insuline, additionnée au milieu d'incubation, potentialise l'effet de l'agent mitogène et la prolifération des lymphocytes T et B.

L'activation des lymphocytes est un phénomène de base impliquée dans la plupart des événements immunologiques. Cette activation entraîne une cascade de signaux intracellulaires aboutissant à la prolifération. Le premier signal est déclenché par la liaison des antigènes ou des mitogènes aux récepteurs de surface cellulaire. Par la suite, un processus complexe implique un certain nombre d'évènements biochimiques incluant l'activation de la phospholipase C, la génération des seconds messagers 1,4,5-inositol triphosphate et diacylglycérol, l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire, l'activation de la protéine kinase C et tyrosine- kinase, le transport des substrats et d'ions dans la cellule, et la sécrétion des cytokines (Altman et al., 1990).

IL-2 est un facteur important de maturation et de croissance des lymphocytes T (Cantrell et al., 1984). IL-6, une autre cytokine, joue un rôle significatif dans la prolifération et la différenciation des cellules B (Reickmann et al., 1991). La quantification des IL-2 et des IL-6 indique que la stimulation de la prolifération des lymphocytes T et des lymphocytes B, par leurs mitogènes respectifs, est associée à une production plus importante des IL-2 et des IL-6.

L'obésité affecte non seulement la fonctionnalité des cellules du système immunitaire mais aussi leur profil de sécrétion des cytokines (Rourke et al., 2006).

En effet, nos résultats montrent que la production d'IL-2 et IL-6 par les lymphocytes stimulés par des mitogènes est faible chez les enfants obèses comparés aux enfants témoins.

Un déficit dans la production des IL-2 ou des IL-6 ou dans l'expression de leurs récepteurs membranaires peut aboutir à la réponse proliférative basse observée chez les enfants obèses.

Une diminution de la production des IL-2 de cellules mononucléaires stimulées par des mitogènes a déjà été reportée chez des rats obèses (Lamas et al., 2007).

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

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

Ceci va dans le même sens que nos résultats, puisque des trois huiles employées (huile de poisson, huile de nigelle, huile d'olive), l'huile de poisson est la plus immunosuppressive chez les enfants obèses et témoins en présence du mitogène.

Certains auteurs ont suggéré que l'activation de la phospholipase D peut être responsable de l'effet antiprolifératif du DHA dans les cellules lymphoïdes et que la surexpression de la phospholipase D dans les cellules T inhibe l'expression de l'ARNm des IL-2 (Diaz et al., 2005).

D'autres études ont montré que l'EPA et DHA inhibent la prolifération lymphocytaire en inhibant l'activité de la MAP kinase (Denys et al., 2002).

La production des cytokines par les lymphocytes stimulés par des mitogènes particulièrement l'IL-2 et l'IL-6 sont réduites de manière significative par les AGPI n-3 (Calder, 2001).

Nos résultats montrent également une réduction de la production d'IL-2 et 6 par les lymphocytes stimulés en présence des huiles principalement l'huile de poisson, chez les enfants témoins et obèses.

L'EPA et le DHA inhibent la production des cytokines pro-inflammatoires : IL-6, IL-1 et de TNF- α cependant cet effet n'est pas observé avec les acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série n-6. Cette inhibition est vraisemblablement due à leur incorporation dans les membranes des cellules mononuclées. Certaines études ont montré une relation inverse entre le contenu en EPA des phospholipides membranaires des cellules mononuclées et la production d'IL-6 (Calder, 2006).

Les lymphocytes jouent un rôle central dans l'initiation, la régulation et les fonctions effectrices du système immunitaire. Des changements dans la composition membranaire peuvent altérer sa fluidité, la distribution des récepteurs et par conséquent la fonction des cellules. Les altérations des fonctions immunes dans le cas de l'obésité peuvent être attribuées en partie aux modifications de la composition en acides gras des membranes et aux altérations du métabolisme des acides gras essentiels (AGE). Chez les patients obèses, il a été trouvé des niveaux bas de C 18:2n-6 dans les phospholipides membranaires des cellules mononuclées. Le niveau du C 20:4n-6 était altéré comme résultat d'obésité (Okita et al., 2001).

Ces acides gras sont les précurseurs des prostaglandines qui sont connues par leur influence sur les réponses immunes (Maclean et al., 2004).

Nos résultats montrent que l'obésité est associée à des altérations de la composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes. De plus, les huiles alimentaires entraînent aussi des modifications de la composition en AG des phospholipides lymphocytaires, aussi bien chez les enfants obèses que les enfants témoins.

Une diminution du C20 : 4n -6 associée à une augmentation significative du C16 : 0 sont notées chez les enfants obèses comparés aux témoins. Ces modifications peuvent être liées à l'augmentation de la consommation des lipides animaux riches en acides gras saturés au détriment des huiles végétales plus riches en acides gras polyinsaturés.

La réduction du C20 : 4n -6 chez les enfants obèses peut être liée à un état d'insulinorésistance, puisque l'insuline stimule l'activité des désaturases. D'un autre côté, la réduction du C20 : 4n -6 peut être consécutive à une utilisation accrue de cet acide gras par les préadipocytes lors de leur différenciation en adipocytes, phénomène accentué lors de l'obésité infantile (Ailhaud, 2006).

La modification de la composition membranaire est un des mécanismes par lesquels les AGPI peuvent moduler la réaction inflammatoire (Calder, 2006). Ainsi, l'incubation en présence de l'huile de nigelle riche en acide linoléique (série n-6) augmente la teneur en acide arachidonique des cellules mononuclées. À l'opposé, l'incubation des lymphocytes en présence de l'huile de poisson (n-3) diminue la production des métabolites de l'acide arachidonique et favorise la production de métabolites des n-3.

Les AGPI n-3 modulent la réaction inflammatoire en particulier par un mécanisme de compétition au niveau de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase, aboutissant à une réduction de libération des métabolites pro-inflammatoires de l'acide arachidonique (Calder et al., 2002 a).

L'acide arachidonique est le plus représenté dans les membranes. De ce fait, il est le principal substrat de la synthèse des eicosanoïdes : leucotriènes de la série 4 et du 5-HETE, prostaglandines et thromboxanes de la série 2. Les eicosanoïdes sont impliqués dans la modulation de l'intensité et de la durée des réponses inflammatoires. Le contenu en acide arachidonique des cellules inflammatoires est fortement corrélé à leur capacité à produire des eicosanoïdes tels que la prostaglandine E2 (Maclean et al., 2004).

L'effet anti-inflammatoire des AGPI n-3 est dû à la diminution de la synthèse des leucotriènes B₄, de la prostaglandine E₂, du thromboxane B₂, du 5-HETE et une inhibition de la production des cytokines proinflammatoires : TNF- α , IL-1 β et IL-6 (Calder, 2006).

Les AGPI modulent l'activité des seconds messagers : DAG, PA et céramides qui sont des seconds messagers importants dans l'activation lymphocytaire. Il est tout à fait concevable que les régimes lipidiques puissent induire des modifications dans la composition en acides gras de ces seconds messagers, et de la, à modifier leur action et donc altérer la transduction des signaux conduisant à l'activation lymphocytaire (Fowler et al., 1993).

De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydatif au cours de l'obésité suite à un déficit des systèmes protecteurs antiradicalaires intracellulaires (Furukawa et al., 2004 ; Susuki et al., 2003).

Les facteurs pro-inflammatoires (TNF α , interleukines) induisent une production de ROS, de même que les facteurs hémodynamiques (flux sanguin, pression artérielle) l'hyperglycémie et l'hypertension (Negre-Salvayre et al., 2005).

Nos résultats confirment la présence d'un stress oxydatif chez les enfants obèses. En effet, les teneurs lymphocytaires en hydroperoxydes, en protéines carbonylées et en MDA sont significativement élevées chez les enfants obèses comparés aux témoins. Cependant, une diminution significative de l'activité de l'enzyme catalase des lymphocytes est notée chez les enfants obèses comparés aux témoins, indiquant des anomalies de la balance oxydante / antioxydante intracellulaire. L'existence de ce stress oxydatif intracellulaire peut être à l'origine des perturbations de la prolifération des lymphocytes chez les enfants obèses.

L'augmentation du taux de radicaux libres circulants altère les lymphocytes circulants au niveau fonctionnel et au niveau structural. La peroxydation des lipides membranaires, notamment des AGPI des phospholipides, génère des peroxydes réactifs responsables d'une autocatalyse de cette réaction tandis que l'oxydation des protéines déréglera les signaux cellulaires de prolifération ou de défense (Buttke et al., 1994).

L'altération de la perméabilité membranaire, secondaire à la peroxydation lipidique, induit des anomalies du transport ionique. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent altérer les systèmes de transport ionique (en oxydant les groupements thiols), en particulier les canaux calciques, les canaux K^+ , Na^+ , Cl^- , les pompes $Ca^{2+}/ATPase$, Na^+ , $K^+-ATPase$ et $H^+-ATPase$, de même que divers échangeurs ou transporteurs d'ions. Les ROS peuvent induire une dérégulation du calcium cytosolique, d'où altération des mitochondries et activation d'enzymes calcium dépendantes impliquées dans l'apoptose ou la nécrose (endonucléases, transglutaminases, calpaines) (Negre-Salvayre et al., 2005).

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des radicaux libres. La peroxydation lipidique est une conséquence du stress oxydant et aussi un relais pour sa propagation (Guichardant et al., 2006).

Il a été démontré qu'une consommation excessive d'acide arachidonique induit une augmentation des processus de lipoperoxydation, en particulier chez les sujets souffrants d'un stress oxydatif (Lagarde et al., 2004).

Plus un acide gras est polyinsaturé plus il est fragile vis-à-vis des radicaux libres, et donc oxydable. L'acide docosahexaénoïque (DHA) est particulièrement oxydable du fait de la présence de six doubles liaisons (Van kuijk et al., 1995).

Nos résultats montrent que les teneurs en MDA et en hydroperoxydes des lymphocytes T et B sont significativement augmentées en présence des différentes huiles (poisson, olive, nigelle) chez les enfants obèses et témoins. Ceci indique que les acides gras polyinsaturés se comportent comme des substrats de lipoperoxydation en augmentant l'action oxydante des radicaux libres. Cependant, en présence des huiles, particulièrement l'huile de poisson, les taux de protéines carbonylées sont diminuées, et leurs valeurs chez les obèses se rapprochent de celles des enfants témoins. Ceci est en faveur d'un effet bénéfique des huiles sur la balance oxydante/antioxydante.

De plus, nos résultats montrent également que la présence des huiles (poisson, nigelle, olive) n'affecte pas l'activité catalase au niveau des lymphocytes des enfants témoins. Cependant, ces trois huiles induisent une stimulation de l'activité catalase au niveau des lymphocytes des enfants obèses, en

réponse au stress oxydatif intracellulaire. L'augmentation de l'activité catalase par les huiles représente un moyen de défense intracellulaire.

Il est clair que le statut oxydant/antioxydant des lymphocytes T et B chez les enfants obèses est plus sensible à la présence des AGPI que celui des enfants témoins. Les différentes huiles, et particulièrement l'huile de poisson régulent le statut oxydant/antioxydant intracellulaire des enfants obèses et tendent à le normaliser.

Rappelons que nos premiers résultats montrent que les lymphocytes des enfants obèses incubés en présence de l'huile de poisson présentent une prolifération plus importante que celle des enfants témoins. Cette prolifération a été estimée par le nombre de cellules, les teneurs en protéines totales et la sécrétion des IL-2 et IL-6. Il apparait clairement que l'huile de poisson améliore le statut oxydant/antioxydant intracellulaire des lymphocytes et la sécrétion des cytokines chez les enfants obèses. Toutefois, les huiles d'olive et de nigelle possèdent aussi cet effet bénéfique mais il est moins important que celui de l'huile de poisson.

Conclusion

Le système immunitaire et le statut oxydant/antioxydant sont altérés au cours de l'obésité. Nos résultats mettent en évidence les perturbations de la fonction lymphocytaire et de la balance oxydante/antioxydante intracellulaire chez les enfants obèses. De plus, les effets immunomodulateurs des différents acides gras (AGMI, AGPI n-6 et AGPI n-3) et leurs effets bénéfiques sur le statut oxydant/antioxydant intracellulaire sont confirmés et montrent l'importance de leur ingestion chez les enfants obèses.

L'obésité infantile est associée à une réduction de la prolifération des lymphocytes T et B et de la production de l'IL-2 et l'IL-6 in vitro. La composition en acides gras des phospholipides des lymphocytes et le statut oxydant intracellulaire sont aussi altérés au cours de l'obésité infantile. Les lymphocytes des enfants obèses répondent aux effets des acides gras de la même façon que les lymphocytes des témoins, montrant le rôle immunomodulateur de ces AGPI. Cependant, les lymphocytes des obèses sont plus sensibles aux effets des AGPI, surtout de la famille n-3 qui ont tendance à améliorer la prolifération lymphocytaire et le statut oxydant/antioxydant.

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

Il est probable que le plus significatif de ces mécanismes en relation avec nos connaissances actuelles sur l'immunorégulation et l'inflammation sera à travers l'effet des acides gras sur la sécrétion des cytokines et le maintien de l'équilibre du statut oxydant/antioxydant.

On ne peut résumer l'obésité infantile à une prévalence ou à un risque. Il s'agit d'une maladie avec des modifications métaboliques précoces qui représente un défi pour l'avenir. Pour le pédiatre, il s'agit d'améliorer et de développer les outils thérapeutiques adaptés à la prise en charge de l'enfant.

La compréhension des mécanismes sous-jacents de l'obésité porte l'espoir de développer de nouveaux moyens thérapeutiques. Mais, actuellement, nous en sommes encore bien loin. L'approche thérapeutique met bien en évidence l'ambiguïté rencontrée dans l'obésité et surtout dans l'obésité infantile.

Pour compléter cette étude *in vitro*, il serait intéressant d'étudier les effets *in vivo* des régimes supplémentés en différents acides gras sur le système immunitaire et le statut oxydant/antioxydant intracellulaire chez les enfants obèses. Il serait ainsi possible de proposer des interventions nutritionnelles basées sur une supplémentation en AGPI dans la prévention des effets à long terme de l'obésité infantile.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

1. Aebi H (1974). Catalase. In methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie Gmbh Weinheim. 2 : 673 - 684.
2. Aggarwal S, Gollapudi S, Yel L, Gupta AS, Gupta S (2000). TNF-alpha-induced apoptosis in neonatal lymphocytes: TNFRp55 expression and downstream pathways of apoptosis. *Genes Immun.* 1: 271 - 279.
3. Ailhaud G (2006). Acides gras polyinsaturés et masse adipeuse: une relation qui pose problème. *Chole Doc. INSERM.* 98: 1 - 6.
4. Altman A, Coggeshall KM, Mustelin T (1990). Molecular events mediating T cell activation. *Adv Immunol.* 48: 227 - 360.
5. Arenz S, Ruckerl R, Koletzko B (2004). Breast-feeding and childhood obesity: a systematic review. *Intern J of Obesity.* 28 (10): 1247 -1256.
6. Bach JF, Chatenoud L (2002). *Immunologie. Flammarion médecine sciences.* 121 – 255.
7. Barzilay JI, Abraham L, Heckbert SR, Cushman M, Kuller LH, Resnick HE, Tracy RP (2001). The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes.* 50: 2384 - 2389.
8. Basdevant A (2002). Deleterious role of adipose tissue on cardiovascular disease. *Annales de cardiologie.* 6 : 346 - 350.
9. Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, Robert JJ, Capeau J, Hainque B (2002). Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 87: 2084 - 2089.
10. Bastard JP, Vidal H (2004). Adipokines, inflammation and insulin resistance in obesity. *Sang thrombose vaisseaux.* 36 - 41.
11. Becknell B, Caligiuri MA (2005). Interleukin-2, interleukin-15, and their roles in human natural killer cells. *Adv Immunol.* 86: 209 – 239.
12. Belluzzi A (2002). N-3 fatty acids for the treatment of inflammatory bowel diseases. *Porc Nutr Soc.* 391-395.
13. Benaroch P (2007). Transport intracellulaire et immunité. *Immunité et cancer.* 85 – 88.
14. Bhave S, Bavdekar A, Otv M (2004). IAP National Task Force for Childhood Prevention of Adult Diseases: Childhood Obesity. *Indian Pediatrics.* 41 (6): 559 - 575.

15. Brichard SM, Delporte ML, Lambert M (2003). Adipocytokines in anorexia nervosa: a review focusing on leptin and adiponectin. *Horm Metab Res.* 35: 337 - 342.
16. Buttke TM, Sandstrom PA (1994). Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today.* 15: 7- 10.
17. Calder PC, Grimble RF (2002 a). Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur J Clin Nutr.* 56(3): 14 - 19.
18. Calder PC, Field CJ, Gill HS (2002 b). Antioxidant vitamins and immune function. *Nutrition and immune function.* 171 - 192.
19. Calder PC (2006). N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr.* 83: 1505 -1519.
20. Calder PC (2004). N-3 fatty acids and cardiovascular disease: Evidence explained mechanisms explored. *Clin Sci.* 1 - 11.
27. Calder PH (2001). Nutrition and immune function. *Nutrition clinique et métabolisme.* 286 – 297.
28. Cantrell DA, Smith KA (1984). The interleukin 2 T-cell system: a new cell growth model. *Science.* 224: 1312 - 1316.
29. Cai D, Yuan M, Frantz DF (2005). Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- and NF-B. *Nat Med.*11 (2): 183 - 90.
30. Cao G, Prior RL (1998). Comparaison of different analytical methods of assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry.* 44: 1309 - 1315.
31. Carr AC, Zhu BZ, Frei B (2000). Potential antiathrogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and alpha- tocopherol. *Circ Res.* 349 - 354.
32. Carr MC, Brunzell JD (2004). Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 89: 2601 - 2607.
33. Chagnon YC, Rankinen T, Snyder EE, Weisnagel SJ, Perusse L, Bouchard C (2003). The human obesity gene map: The 2002 update. *Obes Res.* 11: 313 - 367.
34. Chandra RK, Calder PC, Field CJ, Gill HS (2002). Effect of post-natal protein malnutrition and intrauterine growth retardation on immunity and risk of infection. *Nutrition and immune function.* Cabi Publishing. 41 - 56.
35. Chiolerio A, Lasserre A M, Paccaud F, Bovet P (2007). Childhood obesity, consequences, and prevalence. *Pediatrics.* 3(111): 1262 - 1269.

36. Choudhuri K, Kearney A, Bakker TR (2005). Immunology: how do T cells recognize antigen? *Curr Biol.* 15(13): 1255 - 1258.
37. Cole T, Bellizzi M, Flegal K (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide. *International Survey.* 320: 1240 - 1245.
38. Codoner-Franch P, Valls-Belles P, Boix L, Torres MC, Hernández-Marco R (2004). L'enfant obèse a-t-il un risque accru d'avoir un stress oxydatif ? *SNFGE.* P1.
39. Colin IM (2006). Obésité, syndrome métabolique et diabète : les complices désignés d'une épidémie d'un genre nouveau. *Louvain medical.* 124 - 125.
40. Connor W (2000). Importance of omega-3 fatty acids in health and disease. *Am J of Clin Nutr.* 71: 171-175.
41. Cook MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 1195-1214.
42. Cumano A, Bandeira A, Mordelet E (2006). Développement des Lymphocytes. *INSERM.* 668: P1.
43. Curtin JF, Donovan M, Cotter TG (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods.* 265: 49 - 72.
44. Davies MJ (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Rad Biol Med.* 27: 1151 - 1163.
45. Davis BC, Kris-Etherton PM (2003). Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *Am J Clin Nutr.* 78(3): 640 - 646.
46. De la Fuente M, Victor VM (2000). Anti-oxidants as modulators of immune function. *Immunol Cell Biol.* 78(1): 49 - 54.
47. Delattre J, Thérond P, Bonnefont-Rousselot D (2003). Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques.* 281 - 309.
48. De Lorenzo BH, Brito RR, Godoy LC, Lopes JD, Mariano M (2007). Tolerogenic property of B-1b cells in a model of allergic reaction. Dietary energy and fat intake and physical activity. *Int J Obes.* 26: 458 - 463.
49. Denys A, Hichami A, Khan NA (2002). Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid modulate MAP kinase enzyme activity in human T-cells. *Mol Cell Biochem.* 232(1-2): 143 - 328.
50. Denys A, Hichami A, Khan NA (2005). N-3 PUFAs modulate T-cell activation via protein kinase C- α and - ϵ and the NF- κ B signaling pathway. *J Lipid Res.* 46(4): 752 - 758.

51. De Onis, Blossner M (2000). Prevalence and trends of overweight among preschool children in developing countries. *Amj Clin Nutr.* 72: 1032- 1039.
52. De Pablo MA, Puertollano MA, Alvarez De Cienfuegos G (2002). Biological and clinical significance of lipid as lipids modulators of immune system functions. *Clin Diagn Lab Immunol.* 945 - 950.
53. Diaz O, Mebarek-Azzam S, Benzaria A, Dubois M, Lagarde M, Nemoz G, Prigent AE (2005). Distruption of lipid rafts stimulates phospholipase D activity in human lymphocytes: implication in the regulation of immune function. *J Immunol.* 175 (12): 8077- 8086.
54. Dinarello CA (2000). The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med.* 343: 732 - 734.
55. Doelle, Gregory C (2004). The clinical picture of metabolic syndrome. *Postgraduate Medicine.* 116 (1): 30 - 35.
56. Dong C, Flavell RA (2001). Th1 and Th2 cells. *Curr Opin Hematol.* 8 (1): 47 - 51.
57. Eldor R, Raz I (2006). Lipotoxicity versus adipotoxicity. The deleterious effects of adipose tissue on beta cells in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 1: 3 - 8.
58. Engeli S, Sharma AM (2001). The renin-angiotensin system and natriuretic peptides in obesity-associated hypertension. *J Mol Med.* 79: 21 - 29.
59. E-Siong (2002). Obesity in Asia: prevalence and issues in assessment methodologies. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.* 11 (8): 694 - 698.
60. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2003). Are oxidative stress activated signalling pathways mediators of insulin resistance and b-cell dysfunction? *Diabetes.* 52: 1 - 8.
61. Favier A (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108 – 115.
62. Ferrandez MD, Burgos MS (1998). Immune function in aged women is improved by ingestion of vitamins C and E. *Can J Physiol Pharmacol.* 76(4): 373 - 380.
63. Ferrant V (2001). Le système Immunitaire. *Diffu-Sciences.* 13 - 32.
64. Fève B, Bastard JP, Vidal H (2006). Les relations entre obésité, inflammation et insulino-résistance : acquisitions récentes. *C R Biol.* 329(8): 587 - 597.
65. Foster D, Parrish-Novak J, Fox B (2006). Cytokine-receptor pairing accelerating discovery of cytokine function. *Nature REVIEWS.* 3: 160 - 170.

66. Fowler KH, Murray DN, Fan YY, Aukema HN, Chapkin RS (1993). Purified dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter diacylglycerol mass and molecular species composition in concavalin A stimulated murine splenocytes. *Biochim biophys acta*. 1210 (1): 98 - 69.
67. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima O (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 1752 -1761.
68. Gardès-Albert M, Jore D (2005). Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène : Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*. 1 - 23.
69. Girard J (2004). Acides gras et résistance à l'insuline. *Métabolisme, Hormones, Diabète et Nutrition*. (1): 14 - 20.
70. Goldsby RS, Kindt TJ, Osborne BA (2003). *Les cytokines*. Editions Dunod. 2 - 10.
71. Goldstein BJ (2002). Insulin resistance as the core defect in type 2diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 90: 3 - 10.
72. Guerre-Maillo M (2002). Adipose tissue hormones. *J Endocrinol Invest*. 25: 855 - 861.
73. Guichardant M, Bacot S, Molière P, Lagarde M (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 13(1): 31 - 34.
74. Hattori I, Nakamura H, Masutai H (2003). Thiroedoxin-dependent redox regulation – implication in aging and neurological diseases. *Critical review of oxidative stress and aging*. World Scientific. 87 - 101.
75. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F and Collen D (1998). Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery diseases. *Circul*. 98: 1487 - 1494.
76. Hulshof K M, Burssaard J H, Kruizinga A G, Telman J, Lowik M (2003). Socioeconomic status, dietary intake and 10 y trends: The Dutch National Food Consumption Survey. *Eur J Clin Nutr*. 57(1): 128 -137.
77. IOTF. International Obesity Task Force (2003). Childhood obesity – the new crisis in public health. www.iaso.org/ / <http://www.iaso.org/> / www.preventionalliance.net.
78. Janeway C, Travers P (2001). The immune system in health and disease. *Immunobiology*. 28 – 29.
79. Katzmarzyk PT, Janssen I (2004). The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. *Can J Appl Physiol*. 29(1): 90 - 115.
80. Kaymer H, Meral M, Tuhiran H, Keles M, Celik G, Akcay F (2005). Glutathione peroxidase, glutathione-S- transferase, catalase, xanthine, oxydase, Cu-Zn superoxide dismutase activites

- total glutathione, nitric oxide and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non- small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 133 - 139.
81. Kemali Z (2003). L'obésité au Magreb. *Santé Magreb.* P1.
 82. Kesavulu M, Kameswararao B, Apparao CH, Kumar EG (2002). Effects of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic and obese patients. *Diabetes Metab.* 28: 20 - 26.
 83. Kopelman PG (2000). Obesity as a medical problem. *Nature.* 404: 635 - 643.
 84. Lagarde M, Vericel E (2004). Effets et métabolismes spécifiques des acides gras ω 3. *Oléagineux, corps gras.* 11(1): 55 - 57.
 85. Lamas O, Marti A, Martinez JA (2002). Obesity and immunocompetence. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56 (3): 42-45.
 86. Lamas O, Martinez JA, Marti A (2007). T-helper lymphopenia and decreased mitogenic response in cafeteria diet-induced obese rats. *Nutrition Research.* 4: 497 - 506.
 87. Laurent G, Solari F, Mateescu B, Karaca M, Castel J, Bourachot B, Magnan C, Billaud M, Mechta-Grigoriou F (2008). Oxidative stress contributes to aging by enhancing pancreatic angiogenesis and insulin signaling. *Cell Metab.* 7(2): 113 - 124.
 88. Lecerf JM (2000). *Acides gras essentiels.* Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS. 10 - 19.
 89. Lefebvre P (2003). Non-insulin-dependent diabetes: an expanding disease. Importance of a multidisciplinary approach. *Bull Acad Natl Med* 187: 1307 - 1315.
 90. Levine RL, Garland D, Olivier CN, Amici A, Lenz AG, Shantir S, Stadan ER (1996). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464 - 478.
 91. Lobstein T, Baur L, Uauy R (2004). Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obesity Reviews.* 5: 4-85.
 92. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193: 265 - 275.
 93. Luo J, Hu FB (2002). Time trends of obesity in pre-school children in China from 1989 to 1997. *Int J of Obesity.* 26 (4): 553 - 558.
 94. Lutfalla G, Crollius H R, Stange-Thomann N, Jaillon O, Mogensen K, Monneron D (2003). Comparative genomic analysis reveals independent expansion of a lineage-specific gene family in vertebrates: the class II cytokine receptors and their ligands in mammals and fish. *BMC Genomics.* 4 - 29.

95. Maclean CH, Mojica WA, Morton SC, Pencharz J, Hasenfeld Garland R, Tu W, Newberry SJ, Jungvig LK, Grossman J, Khanna P, Rhodes S, Shekelle P (2004). Effects of omega-3 fatty acids on lipids and glycemic control in type II diabetes and the metabolic syndrome and on inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, renal disease, systemic lupus erythematosus, and osteoporosis. *Evid Rep Technol Assess.* 89: 1 - 4.
96. Maffei C, Schutz Y, Grezzani A (2001). Meal-induced thermogenesis and obesity: is a fat meal a risk factor for fat gain in children? *J of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 86 (1): 214 - 219.
97. Matsuda T, Hirano T (2000). IL-6. Oppenheim JJ & Feldmann M (eds) *Cytokine Reference.* 537 - 563.
98. Meagher EA, FitzGerald GA (2000). Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Rad Biol Med.* 28: 1745 - 1750.
99. Merzouk S, Saker M, Briksi K, Soulimane N, Merzouk H, Guemouche B, Yahia Berrouiguet A, Hichami A, Khan NA, Narce M (2008). N- 3 polyunsaturated fatty acids modulate in vitro T- cell function in diabetic patients. *Lipids.* 43: 485 – 497.
100. Mohn A, Catino M, Cappana R, Giannini C, Marcovechio M, Chiarelli F (2005). Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children. Effect of a dietary restriction, weight loss program. *J Clin endocrinol metab.* 90 (5): 2653 - 2658.
101. Morel Y, Barouki R (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 3: 481 - 496.
102. Moriguchi S, Kato M, Sakai K, Yamamoto S, Shimizu E. (1998). Exercise training restores decreased cellular immune functions in obese Zucker rats. *J Appl Physiol.* 84: 311-317.
103. Morris AM, Sennello JA, Fayad RA, Eckel RH, Dinarello CA, Fantuzzi G (2006). T cell-mediated hepatic inflammation modulates adiponectin levels in mice: role of tumor necrosis factor alpha. *Metabolism.* 55: 555 - 559.
104. Mouraux T, Dorchy H (2005). Le poids de l'obésité dans le (pré)diabète de type 2 chez les enfants et adolescents. *Arch Pediatr.* 12: 1779 - 1784.
105. Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature.* 420: 846 - 852.
106. Negre-Salvayre A, Salvayre R (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides.* 12 (5): 433 - 438.
107. Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE, Fagoaga OR (1999). Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc.* 99: 294 – 299.

108. Nourooz-Zadeh J, Ling Kle, Wolef SP (1996). Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem J.* 313: 781 - 786.
109. Okita M, Hayashi M, Sasagawa T, Takagi K, Suzuki K, Kinoyama S, Ito T, Yamada G (2001). Effect of a moderately energy-restricted diet on obese patients with fatty liver. *Nutrition.* 17(7-8): 542 - 547.
110. Olusi SO (2002). Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1159 - 1164.
111. OMS. Organisation mondiale de la Santé (2006). Thèmes de santé, Obésité - Obesity and overweight: Fact Sheet, OMS. http://www.who.int/hpr/NPH/docs/g_s_obesity.pdf.
112. Oulamara H, Agli A N, Frelut ML (2006). Alimentation, activité physique et surpoids chez des enfants de l'est Algerien. *Cahiers de nutrition et de diététique.* 46 - 54.
113. Pablo MA, Alvarez de Cien Fuegos G (2000). Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol.* 78 (1): 31 - 39.
114. Pacifico L, Di Renzo L, Anania C (2006). Increased T-helper interferon-gamma-secreting cells in obese children. *Eur J Endocrinol.* 154: 691 - 697.
115. Palli D, Vineis P, Russo A (2000). Diet, metabolic polymorphisms and DNA adducts: the EPIC-Italy cross-sectional study. *Int J Cancer.* 87: 444 - 451.
116. Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Medi-Sphere.* 97: 29 - 33.
117. Poitout V, Robertson RP (2002). Secondary b-cell failure in type 2 diabetes. A convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology.* 143: 339 - 342.
118. Pombia C, Lopes LR, Miyasaka CK, Procopio J, Sannomiya P, Curi R, Braz J (2000). Effects of fatty acids on leucocyte function. *Med Res.* 33 (11). 1255 - 1268.
119. Prasad AS (2002). Zinc, infection and immune function. *Nutrition and immune function.* Cabi Publishing. 193 - 208.
120. Reichhed JP, Meyer E, Khafif M, Bonnard G (2005). Major mitochondrial thioredoxin reductase in *Arabidopsisthaliana*. *FEBS Lett.* 337 - 342.
121. Reickmann P, Allessandro F, Nordan RP, Fauci AS, Kehrl JH (1991). IL- 6 and tumor necrosis factor- α autocrine and paracrine cytokines involved in B cell function. *J immunol.* 146: 3462 - 3470.

122. Reilly JJ, Wilson ML, Summerbell CD (2002). Obesity: diagnosis, prevention, and treatment; evidence based answers to common questions. *Arch of Disease in Childhood*. 86 (6): 392 - 394.
123. Ribeiro R, Lopes C, Medeiros R (2006) .The link between obesity and prostate cancer: the leptin pathway and therapeutic perspectives. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 9: 19 - 24.
124. Rigby N, James P (2003). Campagne contre l'obésité et prévention du diabète. *Diabetes Voice*. 48: 1 – 5.
125. Rolland-Cachera MF, Castetbon K, Arnolt N, Bellitiste F (2002). Body mass index into 9 year-old French children, frequency of obesity. *Free Rad Biol Med*. 26: 1610 - 1616.
126. Rourke R W O, Kay T, Lyle E A, Traxler S A, Deveney C W, Jobe B A, Roberts C T, Rosenbaum J T (2006). Alterations in peripheral blood lymphocyte cytokine expression in obesity. *Clin Exp Immunol*. 146(1): 39 - 46.
127. Roussel AM, Nève J, Hininger I (2000). Antioxydants et nutrition. Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*. 261 - 280.
128. Ruan H, Lodish HF (2004). Regulation of insulin sensitivity by adipose tissue-derived hormones and inflammatory cytokines. *Curr Opin Lipidol*. 15: 297 - 302.
129. Rutter GA, Parton LE (2008). The beta-cell in type 2 diabetes and in obesity. *Front Horm Res*. 36: 118 - 134.
130. Sakaguchi S (2000). Regulatory T cells: Key controllers of immunologic tolerance. *Cell*. 101 (5): 455 - 458.
131. Samad F, Uysal KT, Wiesbrock SM, Pandey M, Hotamisligil GS, Loskutoff DJ (1999). Tumor necrosis factor α is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor I. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96: 66902 - 66907.
132. Samartin S, Chandra R K (2001). Obesity, overnutrition and the immune system. *Nutrition research*. 120: 243 - 262.
133. Saltiel AR (1990). Second messengers of insulin action. *Diabetes Care*. 13: 244 – 256.
134. Schauenstein K, Kromer G, Sundick RS, Wick G. (1995). Enhanced response to Con A and production of TCGF by lymphocytes of obese strain (OS) chickens with spontaneous autoimmune thyroiditis. *The Journal of Immunology*. 2: 872-879.
135. Shulman GI (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 106: 171 - 176.
136. Sibilía J, Marirrtte X (2006). Immunologie pour le praticien : Le système immunitaire. *Nat Immunol*. 1 – 33.

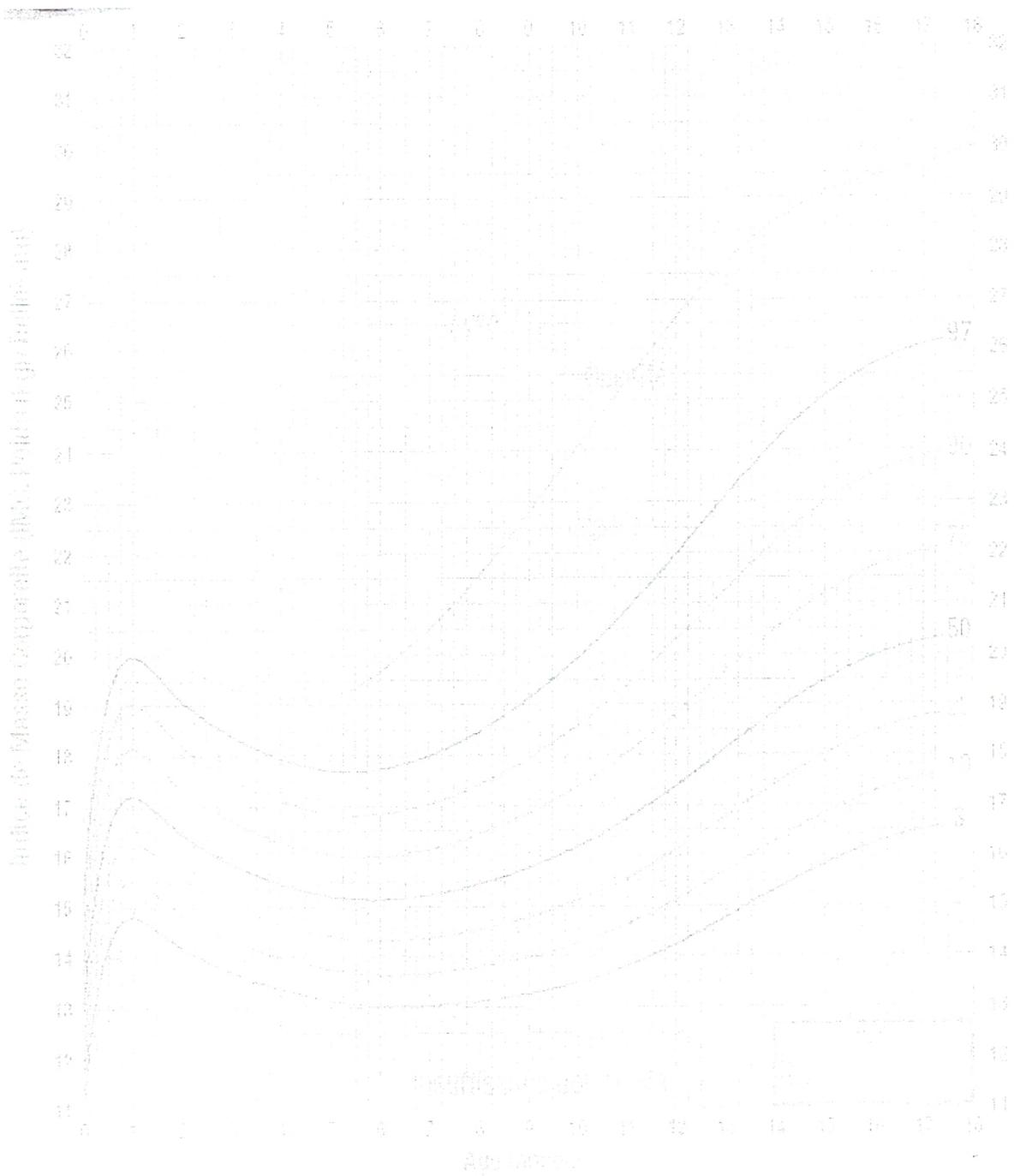
137. Sierra S, Lara-Villoslada F, Comalada M, Olivares M, Xaus J (2008). Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid equally incorporate as decosahexaenoic acid but differ in inflammatory effects. *Nutrition*. 245 - 254.
138. Staiger K, Stefan N, Staiger (2005). Adiponectin is functionally active in human islets but does not affect insulin secretory function or beta-cell lipoapoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 90: 6707 - 67013.
139. Stefan N, Vozarova B, Funahashi T (2002). Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes*. 51: 1884 - 1888.
140. Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabche AE (2004). Proinflammatory cytokines makers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes*. 207 - 286.
141. Stoneham M, Goldacre M, Seagroatt V, Gill L (2000). Oil olive, diet and colorectal cancers: An ecological study and an hypothesis. *J Epidemiol Community Health*. 756 - 760.
142. Suzuki K, Ito Y, Ochiai J, Kusuhara Y, Hashimoto S, Tokudome S, Kojima M, Wakai K, Toyoshima H, Tamakoshi K (2003). Relationship between obesity and serum makers of oxidative stress and inflammation in Japanese. *Asian Pac Cancer Prev*. 259 - 266.
143. Sweeney B, Puri P, Reen DJ (2005). Modulation of immune cell function by polyinsaturated fatty acids. *Pediatr Surg Int*. 335 - 370.
144. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL (2006). Human B cell disorders. *Semin Immunol*. 18(5): 305 - 317.
145. Thies F, Nebe-Von-Caron G, Powell JR, Yaqob P, Newsholme EA, Calder PC (2001). Dietary supplementation with gamma linolenic acid or fish oil decreases T lymphocyte proliferation in healthy older humans. *J Nutr*. 1918 -1927.
146. Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, Girardet JP (2001). Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children. *The Lancet*. 358 (9291): 1400 - 1404.
147. Van kuijk FJ, Siakotos AN, Fong LG, Stephens RG, Thomas TW (1995). Quantitative measurement of 4-hydroxyalkenals in oxidized low-density lipoprotein by gas chromatography mass spectrometry. *J BioChem*. 224 (1): 420 – 424.
148. Vance V, Hanning R (2004). L'obésité infantile. *Documentation*. Vol. 21, numéro 3.

149. Verlengia R, Gorjao R, Kanumfre CC, Bordin S, Martins De Lima T, Martins EF, Curi R (2004). Comparative effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on proliferation, cytokine production and pleiotropic gene expression in Jurkat Cells. *J Nutr Biochem.* 657 - 665.
150. Weiss R, Dziura J, Burgert TS (2004). Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 350: 2362 - 2374.
151. Wilborn C, Beckham J, Campbell B, Harvey T, Galbreath M, Nassar E, Wismann J , Kreider R (2005). Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. *Journal of the International Society of Sports Nutrition.* 2(2): 4 - 31.
152. Witko-Sarbat V, Rieu P, Descamps-Lastscha B (2000). Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest.* 80 (5): 617 - 635.
153. Wolin MS, Ahmed M, Gupter SA (2005). Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *Am J physiological lung cell mol physiol.* 159 - 173.
154. Wolters M, Hermann S, Golf S, Katz N, Hahin A (2005). Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *Eur J Clin Nutr.* 21 - 26.
155. Woodland RT, Schmidt MR (2005). Homeostatic proliferation of B cells. *Semin Immunol.* 17: 209 - 217.
156. Yoshikawa T, Yamamoto Y, Naito Y (2000). Free radicals in chemistry. *Biology and Medicine.* Oica International. 22 - 25.
157. Yu C, Chen Y, Cline G.W, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI (2002). Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of IRS-1 associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem.* 277: 50230 - 50236.
158. Zandecki M (2006). La polyglobulie primaire et les autres polyglobulies. *Hematologie – Biologie.* 490 : 1 -6.
159. Zaldivar F, Mc Murray RG, Nemet D, Galassetti P, Mills PJ, Cooper DM (2006). Body fat and circulating leukocytes in children. *Int J Obes.* 30(6): 906 - 911.
160. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression, *Free Rad. Biol.* 33 (3): 337 - 339.

Annexes



Courbe de Corpulence chez les garçons de 0 à 18 ans



Courbe de Corpulence chez les filles de 0 à 18 ans

Enquête sur les variables socio-économiques (guide d'entretien)

- N°: Age de l'enfant:
- IMC de l'enfant: Sexe de l'enfant:
- Niveau scolaire : Primaire Secondaire
 Supérieur Analphabète
- Habitat : Immeuble Maison semi collective
 Villa Maison en ruine Baraque
- Equipement sanitaire : Cuisine Salle de bain Eau courante
- Taille du ménage : ≤ 3 personnes ≥ 4 personnes
- Emploi du père : Travailleur instable Ouvrier Artisan
 Cadre moyen Enseignant Autre
- Emploi de la mère : Sans emploi Secrétaire Etudiante
 Enseignante Cadre moyen Autre
- Revenu global de la famille : Faible Moyen Elevé

Enquête sur les facteurs de risque de l'obésité infantile (guide d'entretien)

N°:

Age de l'enfant:

Poids de l'enfant :

Taille de l'enfant :

IMC de l'enfant:

Sexe de l'enfant:

Poids de naissance :

Poids à un an :

IMC du père :

IMC de la mère :

Présence d'obésité dans la famille :

Durée de sommeil de l'enfant :

Temps passé devant la télévision par jour :

Utilisation des consoles de jeux :

Utilisation de l'ordinateur :

Moyens de transport : Voiture Bus Vélo Marche à piedActivité sportive : Aucune Faible (-1h/semaine) Moyenne (1 à 4 h/ semaine) Intense (4 h et +/semaine)Activité d'agitation : Enfant calme et gestes lents Agitation moyenne Agitation forte Balancements des pieds Marche de long en large AutresEtat psychologique de l'enfant : Gaieté Anxiété Dépression Ennui
 Carence narcissique Stress Dégout Autres

I. Les paramètres hématologiques

I.1. Frottis sanguin

↳ Colorants utilisés

May- Grunwald: est un mélange d'un colorant acide, éosine, et d'un colorant basique, le bleu de méthylène, en solution dans le méthanol.

Giemsa: est un mélange d'un colorant acide, éosine, et d'un colorant basique, l'azur de méthylène, en solution dans le méthanol.

↳ Mode opératoire

Une goutte de sang capillaire est prélevée et est déposée à l'extrémité d'une lame. Avec une deuxième lame tenue à 45° par rapport à la première, la goutte de sang est étalée d'un mouvement bref sur la lame pour obtenir un étalement fin.

Le séchage se fait à l'air libre pendant 5 mn. Après cela, les lames sont immergées dans le réactif May-Grunwald et sont couvertes pour éviter l'évaporation pendant 3 mn. Après rinçage à l'eau, les lames sont plongées dans le réactif Giemsa pendant 15 mn. Après rinçage à l'eau et séchage, les lames sont prêtes.

I.2. Numération des globules rouges

↳ Matériel utilisé

- Pipette de dilution de Potain (dilution 1/200);
- Cellules hématimétriques : cellule de Malassez ou bien cellule de Thomas;
- Echantillon de sang frais;
- Microscope;

↳ Mode opératoire

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation : 0,5 de la pipette de potain,

- Essuyer l'extérieur de la pipette avec un papier buvard en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette avec le buvard.
- Compléter à la graduation 101 avec le liquide de dilution (eau physiologique à 9‰). On obtient ainsi une dilution au 1/200 ;
- Rejeter les 2 premières gouttes ;
- Procéder à la numération des éléments.

↳ Calculs

On compte les hématies situées à l'intérieur de 5 rectangles quadrillés.

Soit "N" le nombre d'hématies dénombrées dans 5 rectangles quadrillés.

100 : Le volume du grand carré.

200 : La dilution.

Hématies / $\text{mm}^3 = N/5 \times 100 \times 200$.

I.3. Numération des globules blancs

↳ Matériel utilisé

- Pipette de dilution de Potain (dilution 1/20);
- Cellules hématimétriques : cellule de Malassez ou bien cellule de Thomas;
- Echantillon de sang frais;
- Microscope;

↳ Solution utilisée

Liquide de Hayem

- Bleu de méthylène 0.25g;
- Acide acétique 5ml;
- Eau distillée 100ml.

↳ Mode opératoire

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation : 0,5 de la pipette de potain,
- Essuyer l'extérieur de la pipette avec un papier buvard en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette avec le buvard.
- Compléter à la graduation 11 avec le liquide de dilution. On obtient ainsi une dilution au 1/20 ;
- Rejeter les 2 premières gouttes ;
- Procéder a la numération des éléments.

↳ Calculs

Il est identique à celui utilisé pour les hématies, la différence réside dans le comptage qui consiste à dénombrer les leucocytes contenus dans 3 bandes de la cellule.

Soit "N" le nombre de leucocytes comptés dans 3 bandes, à partir d'un sang dilué au 1/20.

10 : Le volume de la bande.

20 : La dilution.

$$\text{Leucocytes /mm}^3 = N/3 \times 10 \times 20.$$

I.4. Numération des plaquettes

↳ Matériel utilisé

- Pipette de dilution de Potain (dilution 1/20);
- Cellules hématimétriques : cellule de Malassez ou bien cellule de Thomas;
- Echantillon de sang frais;
- Microscope;

↳ Solution utilisée

Solution de Marciano

- Sulfate de sodium cristallisé (6 mg).
- Formol à 40 % (1 ml).
- Eau distillée (100 ml).

↳ Mode opératoire

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation : 0,5 de la pipette de potain,
- Essuyer l'extérieur de la pipette avec un papier buvard en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette avec le buvard.
- Compléter à la graduation 11 avec le liquide de dilution. On obtient ainsi une dilution au 1/20 ;
- Rejeter les 2 premières gouttes ;
- Procéder à la numération des éléments.

↳ Calculs

Les plaquettes apparaissent comme des petites particules de 2 à 3 μm de diamètre arrondies et réfringentes.

Soit "N "le nombre de plaquettes comptées dans 3 bandes, à partir d'un sang dilué au 1/20.

10 : Le volume de la bande.

20 : La dilution.

$$\text{Plaquettes /mm}^3 = \text{N}/3 \times 10 \times 20.$$

I.5. Dosage de l'hémoglobine : Méthode de SAHLI

↳ Matériel utilisé

- Hémoglobinomètre de Sahli
- Pipette de SAHLI

↳ Solutions utilisées

- Acide chlorhydrique; 0.1 N
- Eau distillée

↳ Mode opératoire

- Remplir le tube gradué de l'hémoglobinomètre jusqu'au trait 10 avec la solution de HCL 0.1 N,
- Aspirer 20 µl de sang avec la pipette de SAHLI et mélanger soigneusement avec une pipette pasteur.
- Incuber à température ambiante pendant 15 mn, puis ajouter de l'eau distillée goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'une teinte identique à celle de l'étalon.

II. Paramètres immunologiques

II.1. Milieux de culture et produits utilisés dans l'isolement des lymphocytes

↳ *Ficoll*

Le ficoll est un polymère polysaccharidique qui est stérile, il a la bonne densité, la bonne viscosité et la bonne pression osmotique pour une utilisation simple, rapide et fiable. Les principes suivants sont appliqués pour les deux cas de figures: sang sans fibrinogène et sang traité avec un anticoagulant tous deux soumis à une centrifugation pendant un temps déterminé.

La migration différentielle durant la centrifugation résulte en la formation de couches contenant différents types de cellules.

La couche du bas contient les érythrocytes qui ont été agrégés par le ficoll et en occurrence ont sédimenté complètement à travers ce dernier. La couche immédiatement au dessus contient surtout les granulocytes qui, à la pression osmotique de la solution du ficoll atteignent une densité assez importante pour migrer à travers la couche de ce dernier.

A cause de leurs petites densités, les lymphocytes sont retrouvés à l'interface puis sont récupérés et soumis à des lavages avec la solution saline équilibrée pour l'élimination des plaquettes, ficoll et plasma.

Il est important de noter que le ficoll est utilisé dans les procédures de l'isolement des lymphocytes grâce à son rôle important dans l'agrégation des hématies.

 Milieu RPMI1640

C'est un milieu très riche pour la culture cellulaire et qui est plus proche au milieu humain.

<i>Composants</i>	<i>RPMI1 1640 (mg/l)</i>	<i>Composants</i>	<i>RPMI1 1640 (mg/l)</i>
Sels inorganiques:		L- Histidine (base libre)	15.00
Ca(NO ₃).4H ₂ O	100.00	L-Hydroxyproline	20.00
KCL	400.00	L-Isoleusine	50.00
MgSO ₄ (anhydre)	-	L-Leucine	50.00
MgSO ₄ .7 H ₂ O	100.00	L-Lysine.HCL	40.00
NaCL	6000.00	L-Méthionine	15.00
NaHCO ₃	2000.00	L- Phénylalanine	15.00
Na ₂ HPO ₄ (anhydre)	800.00	L- Proline	20.00
Autres composants:		L- Sérine	30.00
D-Glucose	2000.00	L- Thréonine	20.00
Glutathione (réduit)	1.00	L- Tryptophane	5.00
HEPES	-	L- Tyrosine	20.00
Rouge de Phénol	5.00	L- Tyrosine (sel disodique)	-
Acides aminés:		L- Valine	20.00
L- Arginine (base libre)	200.00	Vitamines:	
L- Arginine HCL	-	D- Biotine	0.20
L-Asparagine (base libre)	50.00	Pantothénate de Calcium D	0.25
Acide L-Aspartique	20.00	Chlorure de choline	3.00
L- Cystine	50.00	Acide folique	1.00
L- Cystine. 2 HCL	-	i- inositol	35.00
Acide L - Glutamique	20.00	Nicotinamide	1.00
L- Glutamine	-	Pyridoxal HCL	1.00
L-Alanyl – L- Glutamine	-	Riboflavine	0.20
Glycyl-L-Glutamine	-	Thiamine HCL	1.00
Glycine	10.00	Vitamine B ₁₂	0.005

↳ HEPES

Acide hydroxyethyl pipérazine éthane sulfurique utilisé comme tampon.

$\text{PKa} = 7.5$, $\text{pH} = 6.8 - 8.2$ pH neutre.

↳ La solution saline équilibrée

La solution saline équilibrée est composée d'un mélange de deux solutions: A et B

Solution A composée de :

D – Glucose anhydre	0.1 %	[C] = 1 g/l
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	[C] = 0.0074 g/l
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$9.8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	[C] = 0.1992 g/l
KCL	$5.4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	[C] = 0.4026 g/l
Tris	0.145 M	[C] = 17.565 g/l

Dissoudre dans environ 950 ml d' H_2O distillée, ajouter l'HCL 10 N jusqu'à $\text{pH} = 7.6$. Ajuster le volume à 1 litre.

Solution B : NaCl: 0.14 M ([C] = 8.19 g/l).

Mélanger 1ml de solution A avec 9 ml de solution B.

↳ Le bleu de trypan

Il fait partie des différents colorants d'exclusion utilisés pour la numération des cellules viables .Il est utilisé à une concentration de 0.4%.

↳ *La concanavaline A (CON A)*

C'est un alcaloïde extrait d'une plante appelée Canavalia Ensiformis ou Jack beau, considéré comme mitogène polyclonal, stimule la prolifération des lymphocytes T en culture. Il est utilisé à une concentration de 5 µg/ml.

↳ *La lipopolysaccharide (LPS)*

Endotoxine dérivée de bactérie Gram – Escherichia Coli présentant une activité inflammatoire et mitogène. Elle est largement utilisée pour la stimulation des lymphocytes B. Elle est utilisée à une concentration de 20 µg/ml.

II.2. Test de transformation lymphocytaire (TTL)

↳ *Disposition des puits*

Les incubations sont réalisées de la façon suivante:

Dans chaque puit, 200µl de suspension cellulaire ($4 \cdot 10^5$ cellules /puits) sont déposés. Par la suite, les différents réactifs sont ajoutés sous un volume de 20 µl. Les puits sont complétés à 200 µl (volume final) avec du RPMI.

La concanavaline A (con A) spécifique aux lymphocytes T, est ajoutée dans les puits qui se trouvent dans les lignes A et C, et la lipopolysaccharide (LPS) spécifique aux lymphocytes B est ajoutée dans les puits qui se trouvent dans les lignes E et G.

Puit 1 : 100 µl de suspension cellulaire + 100 µl de RPMI.

Puit 2 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 80 µl de RPMI.

Puit 3 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl insuline + 80 µl de RPMI.

Puit 4 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 20 µl insuline + 60 µl de RPMI.

Puit 5 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de poisson +80 µl de RPMI.

Puit 6 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de poisson + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 60 µl de RPMI.

Puit 7 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de poisson + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 20 µl insuline +40 µl de RPMI.

Puit 8 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile d'olive + 80 µl de RPMI.

Puit 9 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile d'olive + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 60 µl de RPMI.

Puit 10 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile d'olive + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 20 µl insuline +40 µl de RPMI.

Puit 11 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de nigelle + 80 µl de RPMI.

Puit 12 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de nigelle + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 60 µl de RPMI.

Puit 13 : 100 µl de suspension cellulaire + 20 µl solution d'huile de nigelle + 20 µl d'agent mitogène (con A ou LPS) + 20 µl insuline + 40 µl de RPMI.

II.3. Dosage des interleukines

le protocole expérimental est le suivant :

-Un revêtement d'anticorps monoclonal anti IL-2 est administré dans les micropuits

Micro puits enduits



Revêtement d'anticorps monoclonal

- L'IL-2 présent dans l'échantillon ou le standard, se lie aux anticorps adsorbés dans les micropuits. L'anticorps anti IL₂ polyclonal conjugué à la biotine est ajouté et se lie à IL₂ capturé par le premier anticorps.

Première incubation

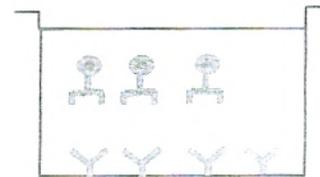


La biotine conjuguée

IL₂

-L' anti IL-2 conjugué à la biotine non liée est enlevé pendant l'étape de lavage. La streptavidine – HRP est ajoutée et se lie à l'anti IL₂ conjugué à la biotine.

Seconde incubation



Streptavidine conjuguée

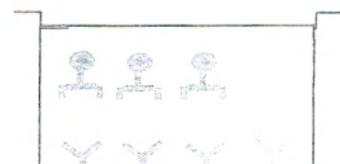
-Pour les incubations suivantes, la streptavidine – HRP non liée est enlevée durant le lavage, et la solution de substrat réagissant avec le HRP est ajoutée aux puits.

Troisième incubation



Substrat

-Un produit coloré est formé proportionnellement à la quantité des IL₂ présents dans l'échantillon. La réaction est terminée par l'addition d'un acide et l'absorbance est mesurée à 450 nm.



Substrat ayant réagi

Une courbe standard est préparée à partir de 7 dilutions d' IL-2 standard et 7 concentrations déterminées d'échantillons.

Principe du dosage des IL₂ par la méthode ELISA

III. Marqueurs du statut oxydant/antioxydant au niveau des lymphocytes

III. 1. Dosage du malondialdéhyde (Méthode de NOUROOZ-ZADEH et al., 1996)

↳ Solutions utilisées

- Acide Thiobarbiturique : TBA à 0.67%
- Acide Trichloroacétique : TCA à 20%
- Eau distillée

↳ Mode opératoire

- Dans un tube à essai, introduire 100 µl de surnageant lymphocytaire ;
- Mettre 100 µl de TBA (acide thiobarbiturique) ;
- Ajouter 500 µl de TCA (acide trichloroacétique) ;
- Vortexer, puis incuber à 100°C pendant 20 minutes ;
- Laisser refroidir, puis centrifuger à 6000 t/ min pendant 10 minutes ;
- Lire la D.O à 532 nm, contre le tube blanc qui contient l'eau distillée ;
- Calculer la concentration du MDA selon la formule suivante :

$$[\text{MDA}] = \text{D.O}/\epsilon \quad \text{où} \quad \epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} : \text{le coefficient d'extinction}$$

D.O : La densité optique de l'échantillon

III. 2. Dosage des hydroperoxydes (Méthode de NOUROOZ-ZADEH et al., 1996)

↳ Réactifs nécessaires

- Sulfate d'ammonium ferrique ;
- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ;
- Méthanol;
- Butylated hydroxyl toluene (BHT);
- Xylénol orange (O-cresolsulfonphthalein-3,3-bis (methyl iminodiacetic acid sodium)) ;
- Triphenylphosphine (TPP) ;
- Acide sulfurique (H₂SO₄) ;

↳ Solutions préparées

Réactif Fox

- Dissoudre 9.8 mg de sulfate d'ammonium ferrique dans 10 ml H₂SO₄ (250 mmol/L) ;
- Ajouter 90 ml de méthanol et 79.2 mg de Butylated hydroxyl toluene (BHT);
- Mélanger et ajouter 7.6 mg de Xylénol orange

Solution de Triphenylphosphine (TPP)

- Dissoudre 0.13 g de TTP dans 50 ml de méthanol à fin d'avoir une concentration finale de 10 mmol/L de méthanol.

Solutions de peroxyde d'hydrogène

- Elles sont préparées à différentes concentrations (2 ,5 ,10 µmol/L)

↳ Mode opératoire

- Prévoir 2 tubes pour chaque échantillon :

Tube test : 90 µl de surnageant lymphocytaire + 10 µl de méthanol

Tube blanc : 90 µl de surnageant lymphocytaire + 10 µl de triphenylphosphine (TPP)

- Incuber les deux tubes pendant 30 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 900 µl de réactif Fox ;
- Incuber 30 minutes, centrifuger à 6000 t/ min pendant 10 minutes ;
- Lire la DO du surnageant à 560 nm ;
- Faire la différence : DO test –DO blanc ;
- Calculer la concentration des hydroperoxydes en utilisant la gamme étalon peroxyde d'hydrogène ou en utilisant la formule suivante :

$$[\text{HYD}] = \text{D.O}/\epsilon \quad \text{ou} \quad \epsilon = 4.4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \text{ (le coefficient d'extinction).}$$

III. 3. Dosage des protéines carbonylées (Méthode de LEVINE et al. 1996)

↳ Solutions utilisées

- Acide chlorydrique (HCL) à 2 mol/l : 19.5 ml et compléter à 100 ml d'eau distillée ;

- Acide trichloroacétique (TCA) à 500 g/l : 5g de TCA dans 10 ml d'eau distillée ;
- Acide trichloroacétique (TCA) à 100 g/l : 5g de TCA dans 25 ml d'eau distillée ;
- Éthanol/ éthylacétate (V/V) : 10 ml d'éthanol + 10 ml d'éthylacétate ;
- Réactif DNPH (dinitrophénylhydrazine) : 2 g de DNPH / 1 L de HCL à 2 mol/l ;
- Guanidine: 6 mol/l ou NaOH 2 M.

↳ Mode opératoire

- Préparer deux tubes : un blanc et un échantillon;

Tube blanc : 50 µl de surnageant lymphocytaire + 1 ml de HCL à 2 mol/l ;

Tube essai : 50 µl de surnageant lymphocytaire + 1 ml de DNPH ;

- Incuber à température ambiante pendant 1 heure ;
- Ajouter par la suite, 200 µl de TCA à 500 g/l, ceci provoque la précipitation des protéines ;
- Centrifuger à 3000 t/min pendant 10 minutes ;
- Jeter le surnageant ;
- Laver le culot 2 fois avec 1 ml du mélange éthanol/éthylacétate et 2 fois avec 1 ml de TCA à 100g/l.
- Le culot est ensuite solubilisé dans 2 ml de guanidine ou de NAOH 2M ;
- Lire les DO à 350, 360 et 375 nm ;
- Faire la différence : DO essai –DO blanc ;
- Calculer la concentration des protéines carbonylées en utilisant le coefficient d'extinction :

$\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ par l'équation suivante : $[C] = \text{DO} \cdot E - \text{DO} \cdot B / \epsilon$

III. 4. Dosage de l'activité de la catalase (Méthode d'Aebi, 1974)

↳ Réactifs nécessaires

- Potassium dihydrogène phosphate (KH₂PO₄) ;
- Disodium hydrogène phosphate (Na₂HPO₄) ;
- Acide sulfurique (H₂SO₄) 95%;

- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 30% ;
- Titanium oxyde sulfate ($TiOSO_4$).

↳ Solutions utilisées

Solution de potassium dihydrogène phosphate (KH_2PO_4)

- Dissoudre 3.4 g de KH_2PO_4 dans 500 ml d'eau distillée.

Solution de disodium hydrogène phosphate (Na_2HPO_4)

- Dissoudre 4.45 g de Na_2HPO_4 dans 500 ml d'eau distillée.

Solution tampon phosphate à 50 mmol/l

- Mélanger les deux solutions précédentes à raison de 1/1.5 en vérifiant le PH (7.0).

Solution d' H_2SO_4 2N

- Mélanger 54.5ml H_2SO_4 à 500 ml d'eau distillée.

Solution d' H_2O_2 à 30 mmol/l

- Mettre 0.34 ml d' H_2O_2 dans 100 ml de tampon phosphate.

Réactif $TiOSO_4$ (Titanium oxyde sulfate)

- Dissoudre 1.7 g de $TiOSO_4$ dans 500 ml H_2SO_4 2N.
- Faire bouillir pendant 10 minutes en couvrant l'erlen. Laisser reposer une nuit, puis filtrer la solution, et conserver à l'abri de la lumière à température ambiante.

↳ Mode opératoire

- Dans un tube à essai, introduire 500 μ L de surnageant lymphocytaire, 500 μ L d' H_2O_2 et 500 μ L de tampon phosphate;
- Incuber 5 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 500 μ L de réactif $TiOSO_4$;
- Lire la DO à 420 nm, contre le blanc qui est le tampon phosphate;

Gamme étalon

- Faire une gamme étalon de H_2O_2 avec le tampon phosphate et le réactif $TiOSO_4$ de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

	10 mmol/L	0.5 mmol/L	1 mmol/L	1.5 mmol/L	2 mmol/L
<i>H₂O₂ à 30 mmol/l</i>	1 ml	50 µl	100 µl	150 µl	200 µl
<i>Tampon phosphate à 50 mmol/l</i>	2 ml	2.95 ml	2.9 ml	1.85 ml	1.8 ml
<i>Réactif TiOSO₄</i>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

Calcul de l'activité de la catalase

A1 est la concentration de H_2O_2 de départ

A2 est la concentration de H_2O_2 après incubation (au bout de 5 min)

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

Volume d'incubation = 1.5

Volume de l'échantillon = 0.5 ml

Temps d'incubation = 5 minutes

Activité catalase = $A \times 1.5 / 0.5 / 5$ (U/ml)

Après dosage des protéines totales au niveau des lymphocytes, l'activité Catalase est exprimée en U/ng de protéines.

Tableau A1: Hémogramme chez les enfants obèses et témoins

	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
<i>Nombre de globules blancs (10³/mm³)</i>	8.98 ± 0.26	11.12 ± 0.45 **
<i>Nombre de globules rouges (10⁶/mm³)</i>	3.86 ± 0.10	4.47 ± 0.08 **
<i>Nombre de plaquettes (10³/mm³)</i>	203.14 ± 8.45	297.20 ± 7.71 **
<i>Hémoglobine (g/100ml)</i>	11.63 ± 0.17	11.87 ± 0.21

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (** p< 0.01).

Tableau A2: Valeurs de la formule leucocytaire chez les enfants obèses et témoins

	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
<i>Lymphocytes/mm³</i>	4420.32 ± 179.86	6099.32 ± 231.93 **
<i>Monocytes/mm³</i>	217.96 ± 19.80	272.09 ± 20.38 *
<i>Polynucléaires/mm³</i>	4487.31 ± 299.92	4792.72 ± 198.37 *

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05 ; ** p< 0.01).

Tableau A3 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10^5 / puit) en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.

	Enfants témoins (10^5 cellules/ puit)	Enfants obèses (10^5 cellules/ puit)
Lymphocytes B		
Prolifération basale	7.88 ± 0.37^a	6.35 ± 0.16^a *
LPS	29.42 ± 0.84^c	25.45 ± 0.49^c **
Insuline	9.88 ± 0.22^b	8.30 ± 0.30^b *
LPS + insuline	35.03 ± 0.66^d	30.15 ± 0.35^d ***
Lymphocytes T		
Prolifération basale	7.88 ± 0.37^a	6.35 ± 0.16^a *
Con A	31.46 ± 0.53^c	27.35 ± 0.48^c ***
Insuline	9.88 ± 0.22^b	8.30 ± 0.30^b *
Con A + insuline	36.80 ± 0.50^d	31.40 ± 0.42^d ***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A4: Prolifération des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.

	<i>Enfants témoins (10⁵ cellules/ puit)</i>	<i>Enfants obèses (10⁵ cellules/ puit)</i>
<i>Prolifération basale</i>	7.88 ± 0.37 ^b	6.35 ± 0.16 ^a *
<i>Huile de poisson</i>	5.76 ± 0.39 ^a	7.20 ± 0.25 ^b *
<i>Huile de nigelle</i>	7.50 ± 0.46 ^b	6.65 ± 0.36 ^a
<i>Huile d'olive</i>	8.00 ± 0.47 ^b	6.58 ± 0.34 ^a *

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Tableau A5 : Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules $\times 10^5$ / puit) en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

	Enfants témoins (10^5 cellules/ puit)	Enfants obèses (10^5 cellules/ puit)
Lymphocytes B		
LPS	29.42 \pm 0.84 ^c	25.45 \pm 0.49 ^c **
LPS + huile de poisson	13.26 \pm 0.62 ^a	15.75 \pm 0.53 ^a *
LPS + huile de nigelle	23.80 \pm 0.44 ^b	20.6 \pm 0.78 ^b *
LPS + huile d'olive	24.88 \pm 0.73 ^b	21.50 \pm 0.68 ^b *
Lymphocytes T		
Con A	31.46 \pm 0.53 ^d	27.35 \pm 0.48 ^d ***
Con A + huile de poisson	14.15 \pm 0.54 ^a	16.75 \pm 0.53 ^a *
Con A+ huile de nigelle	24.69 \pm 0.32 ^b	20.75 \pm 0.50 ^b ***
Con A + huile d'olive	27.03 \pm 0.57 ^c	21.55 \pm 0.29 ^c ***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A6: Prolifération des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS (nombre de cellules x 10^5 / puits) en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

	Enfants témoins (10^5 cellules/ puit)	Enfants obèses (10^5 cellules/ puit)
Lymphocytes B		
Insuline	9.88 ± 0.22^a	$8.30 \pm 0.30^{a*}$
LPS + insuline	35.03 ± 0.66^d	30.15 ± 0.35^d ***
LPS + insuline + huile de poisson	20.46 ± 1.01^b	21.4 ± 0.94^b
LPS + insuline + huile de nigelle	29.30 ± 0.79^c	27.70 ± 0.61^c *
LPS + insuline + huile d'olive	34.38 ± 0.74^d	27 ± 0.36^c ***
Lymphocytes T		
Insuline	9.88 ± 0.22^a	$8.30 \pm 0.30^{a*}$
Con A + insuline	36.80 ± 0.50^d	31.40 ± 0.42^e ***
Con A + insuline + huile de poisson	20 ± 0.68^b	22.40 ± 0.46^b *
Con A + insuline + huile de nigelle	30.65 ± 0.52^c	$27.90 \pm 0,60^c$ **
Con A + insuline + huile d'olive	36.65 ± 0.44^d	$28.05 \pm 0,34^d$ ***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le comptage cellulaire et par la méthode MTT. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student.

a, b, c, d, e indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A7 : Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence ou en absence de l'insuline chez les enfants obèses et témoins.

	<i>Enfants témoins (μg / puit)</i>	<i>Enfants obèses (μg / puit)</i>
Lymphocytes B		
<i>Prolifération basale</i>	152.53 \pm 6.95 ^a	140.10 \pm 5 ^a *
<i>LPS</i>	492 \pm 8.94 ^c	430 \pm 8.53 ^c **
<i>Insuline</i>	196.53 \pm 6.42 ^b	160 \pm 9.35 ^b *
<i>LPS + insuline</i>	514.07 \pm 16.03 ^d	485.40 \pm 15.34 ^d ***
Lymphocytes T		
<i>Prolifération basale</i>	152.53 \pm 6.95 ^a	140.10 \pm 5 ^a *
<i>Con A</i>	489.92 \pm 5.34 ^c	463.20 \pm 5.68 ^c ***
<i>Insuline</i>	196.53 \pm 10.42 ^b	160 \pm 9.35 ^b *
<i>Con A + insuline</i>	527.61 \pm 15.39 ^d	499.90 \pm 15.71 ^d ***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A8: Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes non stimulés par l'agent mitogène en présence de différentes huiles.

	<i>Enfants témoins (μg / puits)</i>	<i>Enfants obèses (μg / puits)</i>
<i>Prolifération basale</i>	152.53 \pm 6.95 ^b	140.10 \pm 5 ^{a *}
<i>Huile de poisson</i>	143.84 \pm 3.79 ^a	156.70 \pm 2,44 ^{b *}
<i>Huile de nigelle</i>	149.15 \pm 10.71 ^b	145.50 \pm 11,28 ^a
<i>Huile d'olive</i>	158.76 \pm 6.42 ^b	142.30 \pm 5,57 ^{a *}

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Tableau A9 : Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

	<i>Enfants témoins (μg / puit)</i>	<i>Enfants obèses (μg / puit)</i>
Lymphocytes B		
LPS	492 \pm 8.94 ^d	430 \pm 8.53 ^d **
LPS + huile de poisson	269 \pm 3.76 ^a	299.20 \pm 6.02 ^a *
LPS + huile de nigelle	364.53 \pm 4.56 ^b	315.60 \pm 8.84 ^b *
LPS + huile d'olive	374.76 \pm 6.45 ^c	343.40 \pm 7.17 ^c *
Lymphocytes T		
Con A	489.92 \pm 5.34 ^d	463.20 \pm 5.68 ^d ***
Con A + huile de poisson	273.92 \pm 4.18 ^a	300.60 \pm 3.59 ^a *
Con A+ huile de nigelle	384.30 \pm 5.70 ^b	315.90 \pm 7.11 ^b ***
Con A + huile d'olive	407.61 \pm 8.21 ^c	341.5 \pm 8.79 ^c ***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A10: Teneurs en protéines totales (en μg / puit) des lymphocytes stimulés par la Con A ou par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants obèses et témoins.

	Enfants témoins (μg / puit)	Enfants obèses (μg / puit)
Lymphocytes B		
LPS + insuline	514.07 \pm 16.03 ^c	485.40 \pm 15.34 ^c ***
LPS + insuline + huile de poisson	323.76 \pm 15.96 ^a	316.20 \pm 8.79 ^a
LPS + insuline + huile de nigelle	430 \pm 4.20 ^b	409 \pm 4.36 ^b *
LPS + insuline + huile d'olive	513.92 \pm 16.20 ^c	403.40 \pm 7.17 ^b ***
Lymphocytes T		
Con A + insuline	527.61 \pm 10.39 ^c	499.90 \pm 10.71 ^d *
Con A + insuline + huile de poisson	337.38 \pm 5.41 ^a	343.70 \pm 5.13 ^a
Con A + insuline + huile de nigelle	491.07 \pm 14.23 ^b	400 \pm 13.95 ^b **
Con A + insuline + huile d'olive	530.69 \pm 10.26 ^c	454.80 \pm 15.91 ^c ****

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. La prolifération est déterminée par le dosage des protéines totales. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

Tableau A11: Production d'interleukines 2 (IL-2) par les lymphocytes T isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-2, Pg / ml).

	Enfants témoins (Pg / ml)	Enfants obèses (Pg / ml)
Lymphocytes T		
<i>Prolifération basale</i>	558.34 ± 66 ^a	498.83 ± 59.01 ^a
<i>Con A</i>	4235.89 ± 255 ^d	2034.55 ± 111 ^{c *}
<i>Con A + insuline</i>	6752.33 ± 377.22 ^e	3771.54 ± 349.14 ^{d *}
<i>Con A + huile de poisson</i>	975.38 ± 155.32 ^b	1502.17 ± 165.14 ^{b *}
<i>Con A+ huile de nigelle</i>	2679.56 ± 345 ^c	1893.44 ± 246 ^{c *}
<i>Con A + huile d'olive</i>	3250.94 ± 337.04 ^c	2404.39 ± 301.95 ^{c *}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

a, b, c, d, e indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p< 0.05) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A12: Production d'interleukines 6 (IL-6) par les lymphocytes B isolés des enfants témoins et des enfants obèses (IL-6, Pg / ml).

	Enfants témoins (Pg / ml)	Enfants obèses (Pg / ml)
Lymphocytes B		
<i>Prolifération basale</i>	143.47 ± 30.02 ^a	156.04 ± 34 ^a
<i>LPS</i>	5859.66 ± 335.22 ^e	3899.26 ± 316.22 ^{e *}
<i>LPS + insuline</i>	7835.34 ± 122.50 ^f	5999.64 ± 108.36 ^{f *}
<i>LPS + huile de poisson</i>	1006.88 ± 224 ^b	2066.53 ± 242.33 ^{b *}
<i>LPS + huile de nigelle</i>	3074.12 ± 225.22 ^c	2674.32 ± 102.20 ^{c *}
<i>LPS + huile d'olive</i>	4511.83 ± 265.22 ^d	3005.71 ± 128.21 ^{d *}

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

a, b, c, d, e, f indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations (p<0.05) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A13: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) chez les enfants témoins et obèses (Etat initial).

<i>Acides gras</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
16 : 0	34.41 ± 1.60	37.74 ± 1.05 *
16 : 1	03.07 ± 0.45	02.06 ± 0.30
18 : 0	19.60 ± 1.10	18.77 ± 1.02
18 : 1	14.74 ± 1.12	15.24 ± 1.19
18 : 2 n-6	17.14 ± 1.22	17.36 ± 1.18
20 : 4 n-6	08.25 ± 0.41	06.22 ± 0.38 *
20 : 5 n-3	01.54 ± 0.46	01.32 ± 0.35
22 : 6 n-3	01.21 ± 0.38	01.24 ± 0.39

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A14: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la Con A chez les enfants témoins et obèses.

<i>Acides gras</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
16 : 0	27.78 ± 1.19	30.95 ± 1.24 *
16 : 1	05.12 ± 0.54	04.60 ± 0.35
18 : 0	23.66 ± 1.16	24.03 ± 1.20
18 : 1	17.56 ± 1.22	17.37 ± 1.25
18 : 2 n-6	14.71 ± 1.12	14.42 ± 1.08
20 : 4 n-6	07.16 ± 0.52	04.95 ± 0.49 *
20 : 5 n-3	01.73 ± 0.52	01.54 ± 0.45
22 : 6 n-3	01.62 ± 0.46	01.46 ± 0.44

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A15: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la LPS chez les enfants témoins et obèses.

<i>Acides gras</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
16 : 0	29.21 ± 1.16	32.76 ± 1.25 *
16 : 1	04.78 ± 0.46	04.11 ± 0.38
18 : 0	19.12 ± 1.40	20.22 ± 1.43
18 : 1	18.74 ± 1.32	19.19 ± 1.35
18 : 2 n-6	15.90 ± 1.23	15.33 ± 1.15
20 : 4 n-6	07.33 ± 0.35	05.05 ± 0.30 *
20 : 5 n-3	01.85 ± 0.65	01.42 ± 0.45
22 : 6 n-3	01.99 ± 0.66	01.85 ± 0.52

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A16: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la Con A en présence d'insuline chez les enfants témoins et obèses.

<i>Acides gras</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
16 : 0	26.46 ± 1.10	29.36 ± 1.18 *
16 : 1	05.53 ± 0.52	04.85 ± 0.44
18 : 0	24.28 ± 1.20	25.24 ± 1.26
18 : 1	19.52 ± 1.28	19.12 ± 1.25
18 : 2 n-6	13.55 ± 0.74	14.14 ± 0.69
20 : 4 n-6	07.02 ± 0.43	04.05 ± 0.44 *
20 : 5 n-3	01.84 ± 0.52	01.62 ± 0.46
22 : 6 n-3	01.72 ± 0.42	01.66 ± 0.41

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A17: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) après stimulation par la LPS en présence d'insuline chez les enfants témoins et obèses.

<i>Acides gras</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
16 : 0	28.83 ± 1.48	31.45 ± 1.53 *
16 : 1	05.68 ± 0.62	04.81 ± 0.52
18 : 0	20.11 ± 1.45	20.14 ± 1.53
18 : 1	19.64 ± 1.32	20.20 ± 1.35
18 : 2 n-6	14.15 ± 1.21	14.42 ± 1.24
20 : 4 n-6	07.42 ± 0.48	05.04 ± 0.52 *
20 : 5 n-3	01.92 ± 0.45	01.55 ± 0.46
22 : 6 n-3	02.13 ± 0.52	01.98 ± 0.45

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A18: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) non stimulés en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Acides gras	Huile de poisson		Huile de nigelle		Huile d'olive	
	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses
16 : 0	28.82 ± 1.23	30.99 ± 1.50 *	23.96 ± 1.12	25.52 ± 1.10 *	24.26 ± 1.14	27.93 ± 1.16 *
16 : 1	05.32 ± 0.44	03.61 ± 0.32	02.36 ± 0.28	02.10 ± 0.25	02.35 ± 0.21	02.21 ± 0.25
18 : 0	16.12 ± 0.32	16.08 ± 0.36	17.48 ± 0.35	18.77 ± 0.34	18.55 ± 0.52	17.42 ± 0.32
18 : 1	16.75 ± 1.25	16.32 ± 1.15	17.82 ± 1.14	17.63 ± 1.15	32.54 ± 1.25	31.84 ± 1.29
18 : 2 n-6	16.11 ± 1.23	18.51 ± 1.21	31.86 ± 1.25	30.26 ± 1.29	12.78 ± 1.24	13.65 ± 1.21
20 : 4 n-6	05.11 ± 0.56	03.45 ± 0.55 *	04.28 ± 0.35	02.22 ± 0.31 *	06.54 ± 0.32	03.97 ± 0.31 *
20 : 5 n-3	08.20 ± 0.52	07.62 ± 0.41	01.33 ± 0.22	01.32 ± 0.25	01.41 ± 0.25	01.35 ± 0.25
22 : 6 n-3	03.56 ± 0.21	03.42 ± 0.24	01.09 ± 0.25	01.24 ± 0.36	01.19 ± 0.45	01.21 ± 0.22

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A19: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la Con A en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Acides gras	huile de poisson		Huile de nigelle		Huile d'olive	
	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses
16 : 0	27.59 ± 1.17	30.08 ± 1.18 *	23.00 ± 1.15	23.75 ± 1.17	24.35 ± 1.22	23.01 ± 1.14
16 : 1	02.25 ± 0.21	02.85 ± 0.26	03.25 ± 0.28	03.51 ± 0.26	03.61 ± 0.55	03.23 ± 0.32
18 : 0	17.52 ± 1.02	16.71 ± 1.04	19.27 ± 0.56	18.43 ± 0.56	20.52 ± 0.56	20.57 ± 0.54
18 : 1	19.36 ± 1.22	18.14 ± 1.24	17.52 ± 1.13	16.95 ± 1.23	30.60 ± 1.13	32.18 ± 1.16 *
18 : 2 n-6	15.10 ± 1.12	18.02 ± 1.38 *	28.24 ± 1.20	31.25 ± 1.22 *	13.62 ± 1.20	14.31 ± 1.15
20 : 4 n-6	04.18 ± 0.31	02.52 ± 0.30 *	05.42 ± 0.34	03.52 ± 0.36 *	04.23 ± 0.25	03.64 ± 0.26
20 : 5 n-3	09.74 ± 1.11	08.24 ± 1.05	01.51 ± 0.22	01.32 ± 0.15	01.55 ± 0.13	01.32 ± 0.21
22 : 6 n-3	03.99 ± 0.60	02.85 ± 0.72	01.42 ± 0.15	01.25 ± 0.14	01.41 ± 0.21	01.56 ± 0.16

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A20: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la LPS en présence de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Acides gras	huile de poisson		Huile de nigelle		Huile d'olive	
	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses
16 : 0	27.57 ± 1.13	27.85 ± 1.25	22.69 ± 1.25	23.37 ± 1.35	22.95 ± 1.21	22.30 ± 1.10
16 : 1	03.12 ± 0.35	03.75 ± 0.26	04.52 ± 0.32	03.85 ± 0.35	03.55 ± 0.56	03.15 ± 0.32
18 : 0	15.42 ± 0.65	14.65 ± 0.54	18.45 ± 0.86	19.73 ± 0.4	20.57 ± 1.02	21.25 ± 1.11
18 : 1	17.45 ± 1.22	18.52 ± 1.36	18.52 ± 1.20	18.14 ± 1.22	31.56 ± 1.13	34.45 ± 1.22 *
18 : 2 n-6	17.05 ± 1.25	21.25 ± 1.30 *	28.21 ± 1.25	31.04 ± 1.36 *	13.33 ± 1.33	12.36 ± 1.46
20 : 4 n-6	06.66 ± 0.32	03.85 ± 0.55 *	04.30 ± 1.10	02.09 ± 1.02 *	04.33 ± 0.55	04.20 ± 0.36
20 : 5 n-3	08.42 ± 0.42	07.66 ± 0.41	01.62 ± 0.42	01.48 ± 0.41	01.65 ± 0.21	01.52 ± 0.38
22 : 6 n-3	03.86 ± 1.02	02.41 ± 1.10	01.65 ± 0.51	01.27 ± 0.36	01.51 ± 0.36	01.50 ± 0.24

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A21: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la Con A en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Acides gras	huile de poisson		Huile de nigelle		Huile d'olive	
	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses
16 : 0	26.30 ± 1.21	26.44 ± 1.13	22.01 ± 1.14	22.65 ± 1.16	22.43 ± 0.36	21.25 ± 0.26
16 : 1	02.85 ± 0.25	02.55 ± 0.39	03.24 ± 0.25	03.61 ± 0.23	02.85 ± 0.36	02.69 ± 0.25
18 : 0	15.48 ± 0.32	15.15 ± 0.39	20.23 ± 0.55	19.45 ± 0.46	21.52 ± 0.52	21.55 ± 0.50
18 : 1	19.66 ± 1.42	20.37 ± 1.56	18.56 ± 1.23	17.96 ± 1.13	31.86 ± 1.12	33.41 ± 1.05 *
18 : 2 n-6	15.85 ± 1.43	15.75 ± 1.33 *	27.24 ± 1.22	30.25 ± 1.17 *	14.55 ± 1.10	13.54 ± 1.13
20 : 4 n-6	06.04 ± 0.36	04.57 ± 0.35 *	05.42 ± 0.33	03.51 ± 0.32 *	03.42 ± 0.62	03.89 ± 0.52
20 : 5 n-3	09.05 ± 0.65	08.34 ± 0.55	01.52 ± 0.20	01.33 ± 0.19	01.64 ± 0.60	01.80 ± 0.51
22 : 6 n-3	04.25 ± 0.48	03.71 ± 0.44	01.41 ± 0.11	01.22 ± 0.15	01.65 ± 0.52	01.53 ± 0.45

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A22: Composition en acides gras des membranes des lymphocytes (pourcentage pondéraux) stimulés par la LPS en présence d'insuline et de différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

Acides gras	huile de poisson		Huile de nigelle		Huile d'olive	
	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses	Enfants témoins	Enfants obèses
16 : 0	26.81 ± 1.13	25.94 ± 1.20	21.60 ± 1.18	22.17 ± 1.43	22.28 ± 1.10	21.40 ± 1.15
16 : 1	03.03 ± 0.45	03.45 ± 0.36	04.52 ± 0.42	03.45 ± 0.45	03.85 ± 0.41	03.52 ± 0.56
18 : 0	14.55 ± 0.32	14.67 ± 0.36	20.35 ± 0.72	21.32 ± 0.42	22.67 ± 0.53	22.25 ± 0.66
18 : 1	17.85 ± 1.32	18.91 ± 1.43	18.62 ± 1.20	18.15 ± 1.22	28.15 ± 1.02	30.58 ± 1.11 *
18 : 2 n-6	16.58 ± 1.05	19.58 ± 1.02 *	27.21 ± 1.25	30.06 ± 1.26 *	14.74 ± 1.25	14.85 ± 1.13
20 : 4 n-6	06.86 ± 0.41	04.60 ± 0.32 *	04.39 ± 1.10	02.07 ± 1.02 *	04.43 ± 0.35	04.20 ± 0.30
22 : 5 n-6	08.88 ± 1.03	08.52 ± 1.12	01.64 ± 0.32	01.38 ± 0.51	01.69 ± 0.38	01.64 ± 0.42
22 : 6 n-3	04.45 ± 0.53	04.25 ± 0.35	01.63 ± 0.41	01.37 ± 0.66	01.50 ± 0.32	01.48 ± 0.27

Chaque valeur représente la moyenne ± ES. La comparaison des moyennes entre les enfants obèses et témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* p<0.05).

Tableau A23: Teneurs en malondialdéhyde (MDA, nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

<i>nmol / 10⁶ cellules</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
Lymphocytes B		
<i>Prolifération basale</i>	1.16 ± 0.01 ^a	1.81 ± 0.02 ^{a *}
<i>LPS</i>	2.35 ± 0.05 ^b	3.10 ± 0.04 ^{b *}
<i>Insuline</i>	1.20 ± 0.03 ^a	1.84 ± 0.02 ^{a *}
<i>LPS + huile de poisson</i>	3.91 ± 0.13 ^c	4.11 ± 0.04 ^{c *}
<i>LPS+ huile de nigelle</i>	3.85 ± 0.03 ^c	4.32 ± 0.10 ^{d *}
<i>LPS + huile d'olive</i>	3.88 ± 0.04 ^c	4.15 ± 0.10 ^{c *}
Lymphocytes T		
<i>Prolifération basale</i>	1.16 ± 0.01 ^a	1.81 ± 0.02 ^{a *}
<i>Con A</i>	2.40 ± 0.06 ^b	3.12 ± 0.04 ^{b *}
<i>Insuline</i>	1.20 ± 0.03 ^a	1.84 ± 0.02 ^{a *}
<i>Con A + huile de poisson</i>	3.97 ± 0.02 ^c	4.19 ± 0.05 ^{c *}
<i>Con A+ huile de nigelle</i>	3.90 ± 0.04 ^c	4.38 ± 0.11 ^{d *}
<i>Con A + huile d'olive</i>	3.92 ± 0.05 ^c	4.37 ± 0.12 ^{d *}

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Tableau A24 : Teneurs en hydroperoxydes (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

<i>nmol / 10⁶ cellules</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
Lymphocytes B		
<i>Prolifération basale</i>	3.68 ± 0.05 ^a	5.08 ± 0.04 ^{a*}
<i>LPS</i>	5.65 ± 0.18 ^b	7.08 ± 0.12 ^{b**}
<i>Insuline</i>	3.66 ± 0.06 ^a	5.04 ± 0.05 ^{a*}
<i>LPS + huile de poisson</i>	8.55 ± 0.21 ^d	8.95 ± 0.22 ^c
<i>LPS+ huile de nigelle</i>	7.89 ± 0.13 ^c	10.25 ± 0.17 ^{d*}
<i>LPS + huile d'olive</i>	8.65 ± 0.10 ^d	10.28 ± 0.19 ^{d*}
Lymphocytes T		
<i>Prolifération basale</i>	3.68 ± 0.05 ^a	5.08 ± 0.04 ^{a*}
<i>Con A</i>	5.78 ± 0.18 ^b	7.11 ± 0.13 ^{b**}
<i>Insuline</i>	3.66 ± 0.06 ^a	5.04 ± 0.05 ^{a*}
<i>Con A + huile de poisson</i>	8.93 ± 0.22 ^d	9.04 ± 0.24 ^c
<i>Con A+ huile de nigelle</i>	8.01 ± 0.15 ^c	10.38 ± 0.18 ^{d*}
<i>Con A + huile d'olive</i>	8.78 ± 0.11 ^d	10.40 ± 0.21 ^{d*}

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

Tableau A25: Teneurs en protéines carbonylées (nmol / 10⁶ cellules) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

<i>nmol / 10⁶ cellules</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
<i>Lymphocytes B</i>		
<i>Prolifération basale</i>	1,12 ± 0,04 ^b	1,39 ± 0,06 ^{b*}
<i>LPS</i>	1,25 ± 0,04 ^c	1,62 ± 0,05 ^{c*}
<i>Insuline</i>	1.17 ± 0.05 ^b	1.42 ± 0.04 ^{c*}
<i>LPS + huile de poisson</i>	0.88 ± 0.04 ^a	0.95 ± 0.06 ^a
<i>LPS+ huile de nigelle</i>	1.14 ± 0.03 ^c	1.29 ± 0.03 ^{b*}
<i>LPS + huile d'olive</i>	1.18 ± 0.06 ^b	1.31 ± 0.05 ^{b*}
<i>Lymphocytes T</i>		
<i>Prolifération basale</i>	1.12 ± 0.04 ^c	1.39 ± 0.06 ^{c*}
<i>Con A</i>	1.20 ± 0.06 ^c	1.50 ± 0.07 ^{d*}
<i>Insuline</i>	1.17 ± 0.05 ^c	1.42 ± 0.04 ^{c*}
<i>Con A + huile de poisson</i>	0.84 ± 0.04 ^a	0.91 ± 0.04 ^a
<i>Con A+ huile de nigelle</i>	1.00 ± 0.05 ^b	1.26 ± 0.02 ^{b*}
<i>Con A + huile d'olive</i>	1.10 ± 0.06 ^c	1.35 ± 0.08 ^{c*}

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).

Tableau A26 : Activité de la catalase intracellulaire (U/ng de protéines) des lymphocytes stimulés en présence des différentes huiles chez les enfants témoins et obèses.

<i>U/ng de protéines</i>	<i>Enfants témoins</i>	<i>Enfants obèses</i>
Lymphocytes B		
<i>Prolifération basale</i>	6.15 ± 0.14 ^a	5.57 ± 0.11 ^{a*}
<i>LPS</i>	17.02 ± 0.70 ^c	11.34 ± 0.52 ^{c*}
<i>Insuline</i>	7.18 ± 0.16 ^b	6.21 ± 0.22 ^{b*}
<i>LPS + huile de poisson</i>	17.52 ± 1.10 ^c	16.25 ± 1.02 ^d
<i>LPS+ huile de nigelle</i>	17.45 ± 1.11 ^c	16.58 ± 0.91 ^d
<i>LPS + huile d'olive</i>	16.88 ± 0.97 ^c	15.44 ± 1.02 ^d
Lymphocytes T		
<i>Prolifération basale</i>	6.15 ± 0,14 ^a	5.57 ± 0.11 ^{a*}
<i>Con A</i>	16.25 ± 0,64 ^c	10.26 ± 0.85 ^{c*}
<i>Insuline</i>	7.18 ± 0,16 ^b	6.21 ± 0.22 ^{b*}
<i>Con A + huile de poisson</i>	16.38 ± 1,04 ^c	15.65 ± 1.07 ^d
<i>Con A+ huile de nigelle</i>	16.35 ± 1,15 ^c	15.54 ± 0.88 ^d
<i>Con A + huile d'olive</i>	16.12 ± 0,99 ^c	15.36 ± 1.05 ^d

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± ES des incubations réalisées en triples chez 26 enfants témoins et 20 enfants obèses. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre témoins et obèses sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

a, b, c, d indiquent les différences significatives obtenues entre les différentes incubations ($p < 0.05$) dans le même groupe.

* indique différence significative entre les témoins et les obèses (* $p < 0.05$).