



**HAL**  
open science

# Influence d'un régime riche en huile de palme sur le statut antioxydant, la fonction mitochondriale et les désordres métaboliques associés à l'obésité

Youzan Ferdinand Djohan

► **To cite this version:**

Youzan Ferdinand Djohan. Influence d'un régime riche en huile de palme sur le statut antioxydant, la fonction mitochondriale et les désordres métaboliques associés à l'obésité. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier; Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), 2017. Français. NNT : 2017MONTT035 . tel-01684279

**HAL Id: tel-01684279**

**<https://theses.hal.science/tel-01684279>**

Submitted on 15 Jan 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

**Cotutelle : Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY  
de Cocody, Abidjan**

**En Biologie Santé**

**École doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé**

**Unité de recherche UMR 9214, INSERM U1046 Physiologie et Médecine  
Expérimentale du Cœur et des Muscles**

## INFLUENCE D'UN REGIME RICHE EN HUILE DE PALME SUR LE STATUT ANTIOXYDANT, LA FONCTION MITOCHONDRIALE ET LES DESORDRES METABOLIQUES ASSOCIES A L'OBESITE

**Présentée par Youzan Ferdiand DJOHAN**

**Le 10 novembre 2017**

**Sous la direction de Eric BADIA et Absalome Aké MONDE**

**Devant le jury composé de**

<b>Eric BADIA</b>	<b>Maître de Conférences, Université de Montpellier</b>	<b>Directeur</b>
<b>Absalome A. MONDE</b>	<b>Maître de Conférences, Université FHB de Cocody, Abidjan</b>	<b>Co-Directeur</b>
<b>Anne-Marie ROUSSEL</b>	<b>Professeur Emérite, Université de Grenoble</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Isabelle HININGER</b>	<b>Maître de Conférences, Université de Grenoble</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Olivier DANGLES</b>	<b>Professeur, Université d'Avignon</b>	<b>Examineur</b>
<b>Jean-Paul CRISTOL</b>	<b>Professeur, Université de Montpellier</b>	<b>Examineur</b>
<b>Marie-Laure HAUHOUOT-ATTOUNGBRE</b>	<b>Professeur, Université FHB de Cocody, Abidjan</b>	<b>Examineur</b>
<b>Christine FEILLET-COUDRAY</b>	<b>Chargé de recherche, Université de Montpellier</b>	<b>Invité</b>
<b>Jean-Michel LECERF</b>	<b>Professeur Associé, Université de Lille</b>	<b>Invité</b>



## **REMERCIEMENTS**

---

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à :*

*Monsieur le Professeur **Daniel E. SESS**, pour sa participation active à la conception et la mise en œuvre des travaux de cette thèse. Toutes fois que les choses semblaient ne plus avancer, vous avez toujours été là, comme un catalyseur, pour les faire bouger. Recevez l'expression de ma profonde gratitude et de mon estime.*

*Monsieur le Professeur **Jean Paul CRISTOL** pour m'avoir accueilli avec bienveillance dans son équipe de recherche afin de réaliser mes travaux de thèse. En dépit de vos nombreuses autres responsabilités, j'ai pu bénéficier d'un excellent encadrement et de conseils avisés sur mes travaux. Votre enthousiasme et votre simplicité ont facilité mon intégration dans votre équipe. Merci pour la collaboration que vous avez initiée avec Abidjan (Côte d'Ivoire) afin de permettre aux jeunes doctorants du Sud de bénéficier de votre riche expérience universitaire et de vos qualités de chercheur émérite. Merci également de vous être impliqué avec enthousiasme à tous les niveaux de cette thèse. Je vous en remercie infiniment.*

*Monsieur le Docteur **Eric BADIA**, MCU, pour avoir accepté de diriger cette thèse. Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour votre implication totale et sincère et surtout pour avoir été au four et au moulin durant les trois années de cette thèse. J'admire votre dynamisme, votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre HUMILITE et surtout votre gentillesse. Merci d'avoir effectué ma première inscription à l'Université de Montpellier et de m'avoir trouvé une chambre, deux éléments indispensables à l'obtention de mon Visa d'étude. Merci également pour les deux télévisions et le vélo que vous avez mis à ma disposition afin de rendre agréable mes différents séjours à Montpellier. S'il m'était demandé de vous qualifier, je dirais que vous êtes la "force tranquille". Recevez l'expression de ma profonde gratitude et que Dieu vous bénisse abondamment.*

*Monsieur le Docteur **Absalome Aké MONDE**, MCU-PH, pour avoir accepté la co-direction de cette thèse. Je vous exprime ma profonde gratitude pour votre investissement dans la mise en œuvre et la réalisation de ce projet. Merci de*

votre engagement et de votre présence à mes côtés durant mes démarches de recherche de financement pour la réalisation de cette thèse. Votre passion pour la recherche nous a beaucoup motivé dans ce travail de même que vos encouragements et votre indéfectible soutien. Dieu vous bénisse et vous le rende au centuple.

Aux Docteurs **Marie Josèphe AMIOT-CARLIN** et **Didier GAGNE** pour leur disponibilité et leur expertise notamment lors des comités de thèse.

Je témoigne ma gratitude au Professeur **Jean Michel LECERF** et au Docteur **Isabelle HININGER** pour avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs. J'adresse mes remerciements aux Professeurs **Olivier DANGLES** et **Marie-Laure HAUHOOT-ATTOUNGBRE** qui ont accepté de faire partie du jury de cette thèse comme examinateurs et de juger ainsi ce travail. Leurs remarques et leurs critiques seront pour moi une source d'enrichissement.

Je tiens à remercier infiniment l'entreprise **SANIA cie** pour la confiance qu'elle m'a accordée en prenant en charge financièrement les frais de laboratoire, sans lesquels cette thèse n'aurait pu être menée.

Je remercie du fond du cœur tout le personnel de l'Institut Universitaire de Recherche Clinique (IURC) pour leur gentillesse et leur ouverture du cœur. Votre joie de vivre et la facilité avec laquelle vous m'avez accepté a rendu mes différents séjours, à Montpellier, très agréables. Merci aux Docteurs **Marion MORENA** et **Fabrice RAYNAUD** et à Madame **Céline LAURET** pour leur implication à tous les niveaux dans la réalisation des western Blot, des qPCR et des dosages spectrophotométriques. Votre esprit d'équipe, votre rigueur scientifique et vos compétences techniques m'ont beaucoup fasciné.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance aux Docteurs **Charles COUDRAY** et **Christine FEILLET-COUDRAY** pour avoir fait sienne cette thèse. Merci de nous avoir aidé à monter ce projet de bout en bout, à faire la composition et la préparer des différents régimes et la commande des animaux. Merci de nous avoir fait confiance, en nous ouvrant grandement les portes de votre laboratoire pour y réaliser nos différents dosages. Merci pour vos précieux conseils, votre esprit critique et surtout votre rigueur dans le traitement des données. Merci pour votre disponibilité et surtout votre patience, car dans les moments difficiles de cette étude, vous nous avez prêté une oreille attentive et

*vous avez su nous guider. Pour ce faire, je vous dis MERCI, MERCI, MERCI... J'ai été particulièrement marqué par la bonne organisation de votre équipe. Je voudrais remercier Madame **Béatrice BONAFOS**, l'infatigable, qui reste toujours souriante et imperturbable malgré l'ampleur de la tâche. Merci Béatrice de m'avoir formé au Western Blot, avec toi j'ai appris à travailler avec joie. Un grand merci à Monsieur **Gilles FOURET** pour m'avoir appris de nombreuses techniques de laboratoire. Je lui suis très reconnaissant pour ses qualités professionnelles et humaines. Je témoigne ma gratitude au Docteur **Jorys VIDE** pour son aide précieuse dans la réalisation de certains dosages. Merci au Docteur **Sylvie GAILLET** pour ses précieux conseils.*

*Je manifeste ma gratitude à toute l'équipe de Physiologie et Médecine Expérimentale du Cœur et des Muscles UMR 9214 pour avoir facilité mon intégration. Plus particulièrement je remercie les Docteurs **Anne VIRSOLVY** et **Karen LAMBERT** pour leur implication respective dans la réalisation de la réactivité vasculaire et du test de tolérance au glucose par voie intra-péritonéale.*

*J'exprime ma profonde gratitude au personnel du Laboratoire de Biochimie du CHU Lapeyronie, en particulier au Docteur **Anne-Marie DUPUY**, aux ingénieurs **Edith PINOT** et **Thibault SUTRA** pour leur implication effective dans la réalisation des travaux de cette thèse.*

*Je remercie les Docteurs **Bernard JOVER** et **Nathalie GAYRARD**, et le doctorant **Jonas LARGET** pour leur implication dans le sacrifice des animaux et le traitement histologique des foies et des tissus adipeux. Votre aide et vos compétences techniques m'ont beaucoup apporté.*

*Je remercie le Professeur **Georges TIAHOU** pour sa participation active à la conception de ce projet et surtout pour avoir été le pionnier de la collaboration entre le Laboratoire de Biochimie de l'UFR Sciences Médicales Abidjan, Côte d'Ivoire et le Laboratoire de Biochimie du CHU Lapeyronie de l'Université de Montpellier. Merci pour tout cher Maître.*

*Je remercie le Docteur **Massara CAMARA-CISSE**, MCU-PH, pour sa participation active à la conception de ce projet, ses encouragements et ses précieux conseils pendant les moments difficiles. Que Dieu vous bénisse en abondance.*

*J'exprime mon infini gratitude à mon épouse, **Joëlle DJOHAN**. A toi mon amour, merci pour ton aide quotidienne et ton soutien sans faille. Merci d'avoir veillé sur nos trois enfants (**Shab M. DJOHAN, Kevalshar M. DJOHAN et Vivéka Y. DJOHAN**) pendant mes longues périodes de stage à Montpellier. Merci pour ton amour, ta patience et ta gentillesse sans borne. Que Dieu t'accorde en permanence sa grâce et sa bénédiction.*

*En fin, merci à tous ceux que j'ai connu et que j'ai omis de citer.*

## **RESUME**

---

L'huile de palme est l'huile végétale la plus consommée au monde. Du fait de sa teneur élevée en acides gras saturés (AGS), notamment en acide palmitique, cette huile est considérée par certains auteurs comme potentiellement nocive pour la santé. Cette étude avait pour objectif de comparer les effets de l'huile de palme (rouge ou oléine), à l'huile d'olive (réputée bonne pour la santé) et aux saindoux (riche en AGS), sur la santé. Pour réaliser cette étude, 40 rats mâles Wistar ont été répartis en 5 groupes de 8 rats chacun : 1 groupe contrôle et 4 groupes nourris par des régimes obésogènes contenant respectivement de l'huile de palme rouge, de l'oléine de palme, de l'huile d'olive ou du saindoux. Après 12 semaines de régime, les rats ont été sacrifiés et les tissus prélevés. Les examens réalisés sur les tissus ont montré que l'huile de palme (rouge ou oléine) induit un statut antioxydant et un profil lipidique superposables à ceux de l'huile d'olive. Tous les régimes obésogènes ont favorisé la prise de poids, l'altération de la fonction mitochondriale et la perturbation du métabolisme glucidique par l'induction d'une insulino-résistance. Il ressort de cette étude que l'huile d'olive est plus délétère pour le foie que l'huile de palme (rouge ou oléine) et le saindoux. Hormis l'huile de palme rouge, l'oléine de palme, l'huile d'olive et le saindoux influencent négativement les tissus adipeux. Les études menées sur l'aorte ont montré que les effets vasculaires de l'huile de palme sont moins délétères pour l'aorte que le saindoux et l'huile d'olive.

Les résultats de cette étude indiquent que globalement, l'huile de palme (rouge ou oléine) n'a pas d'effets délétères supérieurs à ceux de l'huile d'olive concernant les organes qui ont été étudiés.

**Mots clés :** Huile de palme rouge, oléine de palme, huile d'olive, saindoux, stéatose, stress oxydant, mitochondrie, insulino-résistance, tissu adipeux, réactivité vasculaire.

## **SUMMARY**

---

Palm oil is the most consumed vegetable oil in the world. Because of its high content of saturated fatty acids (SFA), particularly palmitic acid, this oil is considered by some authors as potentially harmful to health. The aim of this study was to compare the effects of palm oil (red or olein), olive oil (considered good for health) and lard (rich in SFA), on health. To do this, 40 male Wistar rats were divided into 5 groups of 8 rats each: 1 control group and 4 groups fed by high fat diet (HFD) containing respectively red palm oil, palm olein, olive oil or lard. After 12 weeks of diet, the rats were sacrificed and the tissues removed. Tissue tests have shown that palm oil (red or olein) induces an antioxidant status and a lipid profile superimposed on those of olive oil. All HFD contributed to weight gain, impaired mitochondrial function, and disturbance of carbohydrate metabolism by the induction of insulin resistance. The study shows that olive oil is more deleterious to the liver than palm oil (red or olein) and lard. Apart from red palm oil, palm olein, olive oil and lard negatively influence adipose tissue. Studies on the aorta have shown that the vascular effects of palm oil are less deleterious to the aorta than lard and olive oil.

Overall, the results of this study show that harmful effects of palm oil (red or olein) were not worse than that of olive oil on organ that were analyzed.

**Key words:** Red palm oil, palm olein, olive oil, lard, steatosis, oxidative stress, mitochondria, insulin resistance, adipose tissue, vascular reactivity.

## **TABLE DES MATIERES**

---

Liste des figures.....	xiv
Liste des tableaux.....	xvi
Liste des abréviations.....	xvii
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Revue de la littérature</b> .....	6
I-Ce qu'il faut savoir sur l'huile de palme.....	7
1.1-Le palmier à huile .....	7
1.1.1-Origine.....	7
1.1.2-Culture.....	7
1.1.3-Fruits.....	8
1.2-L'huile de palme .....	10
1.2.1- Production et échanges mondiaux .....	11
1.2.2- Différents formes d'utilisation de l'huile de palme.....	14
1.2.3-Constituants de l'huile de palme.....	17
1.2.3.1-Constituants majeurs de l'huile de palme.....	17
1.2.3.2-Constituants mineurs de l'huile de palme.....	19
1.2.3.2.1-Les pigments.....	20
1.2.3.2.2-La vitamine E .....	22
1.2.3.2.3-Les stérols et les terpènes .....	22
1.2.3.3-Effets du raffinage sur les constituants de l'huile de palme .....	23
1.2.4-Propriétés spécifiques et qualités nutritionnelles.....	23
1.2.4.1-Qualités nutritionnelles.....	24
1.2.4.2-Propriétés spécifiques et applications .....	27
1.3-Huile de palme et santé .....	28
1.3.1-Huile de palme et MCV.....	28
1.3.2-Huile de palme et autres pathologies.....	31
1.3.2.1-Huile de palme et diabète de type 2 .....	31
1.3.2.2-Huile de palme et cancer.....	32
II-Le stress oxydant .....	34
2.1-Les espèces réactives.....	34
2.1.1- Les espèces réactives de l'oxygène.....	36
2.1.1.1-Origines des espèces réactives de l'oxygène .....	36
2.1.1.2-Rôles physiologiques des ERO .....	37
2.1.2- Les espèces réactives de l'azote.....	38
2.1.2.1-Origines des espèces réactives de l'azote .....	38
2.1.2.2-Rôles physiologiques des ERN .....	39
2.1.3-Les cibles biologiques des espèces réactives.....	39
2.1.3.1-Les lipides et lipoprotéines .....	39
2.1.3.2-Les protéines .....	41
2.1.3.3-L'acide désoxyribonucléique .....	43

2.2-Les antioxydants.....	43
2.2.1-Les antioxydants endogènes.....	44
2.2.1.1- Les antioxydants endogènes enzymatiques.....	44
2.2.1.1.1-Les superoxydes dismutases .....	44
2.2.1.1.2-La catalase.....	45
2.2.1.1.3-Les glutathions peroxydases.....	45
2.2.1.1.4-L'hème oxygénase-1 .....	46
2.2.1.1.5-La NAD(P)H quinone oxydoréductase 1 .....	46
2.2.1.2- Les antioxydants endogènes non enzymatiques.....	47
2.2.1.2.1-Le glutathion et les protéines-thiols.....	47
2.2.1.2.2-L'acide urique .....	48
2.2.1.2.3-Le Coenzyme Q10 .....	48
2.2.1.2.4-La bilirubine .....	48
2.2.2-Les antioxydants exogènes.....	49
2.2.2.1-Les vitamines .....	49
2.2.2.1.1-La vitamine A .....	49
2.2.2.1.2-La vitamine C .....	49
2.2.2.1.3-La vitamine E .....	50
2.2.2.2-Les oligoéléments .....	50
2.2.2.2.1-Le cuivre .....	50
2.2.2.2.2-Le sélénium .....	50
2.2.2.2.3-Le zinc .....	51
2.2.2.3-Les polyphénols .....	51
2.3- Le stress oxydant et la signalisation cellulaire .....	52
2.3.1- NF-E2-related factor 2 (Nrf2) .....	52
2.3.1.1- Structure de Nrf2.....	52
2.3.1.2- Activation de Nrf2.....	52
2.3.1.3- Rôle de Nrf2 dans la défense antioxydante .....	53
2.3.2-Autres facteurs de transcription .....	54
2.3.2.1- Nuclear Factor-kappa B (NF-κB) .....	54
2.3.2.2- Activated Protein-1 (AP-1) .....	54
2.4- Le stress oxydant et la santé.....	55
2.4.1-Stress oxydant et diabète .....	55
2.4.1.1-Stress oxydant et diabète de type 2.....	55
2.4.1.2-Stress oxydant et diabète de type 1.....	56
2.4.1.3-Stress oxydant et complications du diabète .....	56
2.4.2- Stress oxydant et athérosclérose.....	57
2.4.3- Stress oxydant et cancer.....	58
III-La mitochondrie .....	59
3.1-Structure de la mitochondrie.....	59
3.1.1-Les membranes mitochondriales.....	60
3.1.1.1-La membrane mitochondriale externe.....	60
3.1.1.2-L'espace inter-membranaire .....	61

3.1.1.3-La membrane mitochondriale interne.....	61
3.1.2-La matrice mitochondriale.....	62
3.2-Fonctionnement de la mitochondrie.....	63
3.2.1-La chaîne respiratoire mitochondriale et l'ATP synthase.....	63
3.2.1.1-Le complexe I : NADH ubiquinone oxydoréductase.....	63
3.2.1.2-Le complexe II : Succinate ubiquinone oxydoréductase ou succinate déshydrogénase.....	65
3.2.1.3-Le complexe III : Ubiquinol-cytochrome c réductase .....	65
3.2.1.4-Le complexe IV : Cytochrome c oxydase .....	66
3.2.1.5-L'ATP synthase.....	67
3.2.1.6- Supercomplexes ou respirasomes.....	67
3.2.2-La phosphorylation oxydative .....	68
3.3-Biogenèse mitochondriale .....	70
3.3.1- Facteurs de transcription mitochondriaux .....	70
3.3.1.1- POLRMT (Polymerase RNA mitochondrial) .....	70
3.3.1.2- TFAM (mitochondrial transcription factor A) .....	71
3.3.1.3- TFB1M et TFB2M (mitochondrial transcription factor B1 et B2) .....	71
3.3.1.4- mTERF (mitochondrial transcription termination factor) .....	71
3.3.2- Régulateurs transcriptionnels des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales .....	72
3.3.2.1- NRF1 (nuclear respiratory factor 1) .....	72
3.3.2.2- NRF2 (nuclear respiratory factor 2) .....	72
3.3.2.3- PPAR (Peroxisome proliferator-activated receptor) .....	72
3.3.2.4- PGC1 $\alpha$ (PPAR gamma coactivator 1-alpha) .....	73
3.3.2.5- PGC1 $\beta$ (PPAR gamma coactivator 1-béta) .....	73
IV- Obésité et désordres métaboliques associés .....	74
4.1-Obésité .....	74
4.1.1-Prévalence de l'obésité.....	74
4.1.2-Causes de l'obésité .....	75
4.2-Désordres métaboliques associés à l'obésité.....	76
4.2.1-L'insulinorésistance .....	76
4.2.1.1-Obésité et insulino-résistance .....	78
4.2.1.2-Insulino-résistance musculaire.....	79
4.2.1.3-Insulino-résistance hépatique.....	84
4.2.1.4-Insulino-résistance du tissu adipeux.....	84
4.2.2-La stéatose hépatique non alcoolique .....	85
4.2.2.1-Insulino-résistance adipocytaire et Stéatose hépatique .....	85
4.2.2.2-Implication de l'hyperinsulinémie et l'hyperglycémie dans la stéatose hépatique .....	86
4.2.3-Le diabète de type 2.....	87
4.2.4-Dyslipidémie et maladies cardiovasculaires.....	88



2.4.2.1.7-La NADPH oxydase.....	107
2.4.2.2-Les paramètres de la fonction mitochondriale.....	108
2.4.2.2.1-Le potentiel de membrane.....	108
2.4.2.2.2-La citrate synthase.....	109
2.4.2.3-Les complexes de la chaîne respiratoire .....	110
2.4.2.3.1-La NADH ubiquinone réductase (complexe I) .....	110
2.4.2.3.2-La succinate ubiquinone réductase (complexe II) .....	110
2.4.2.3.3-L'ubiquinol-cytochrome c réductase (complexe III)....	111
2.4.2.3.4-La cytochrome c oxydase (complexe IV) .....	111
2.4.2.4-Les paramètres lipidiques.....	111
2.4.2.4.1-Extraction des lipides .....	111
2.4.2.4.2-Séparation et quantification des lipides neutres du foie.....	112
2.4.2.4.3-Séparation et quantification des phospholipides des mitochondries du foie.....	114
2.4.2.4.4-Quantification des acides gras du foie par chromatographie en phase gazeuse.....	116
2.4.2.5-La transcription des gènes d'intérêt .....	118
2.4.2.6-Expression des protéines d'intérêt par western blot.....	119
2.4.2.7-L'histologie.....	121
2.4.3-Le muscle.....	121
2.4.3.1-La transcription des gènes d'intérêt.....	121
2.4.3.2-Expression des protéines d'intérêt par western blot.....	121
2.4.4-La réactivité vasculaire de l'aorte .....	122
2.4.5-Le tissu adipeux.....	123
2.5-Analyses statistiques.....	123
<b>Résultats et discussions</b> .....	124
I-Effets des régimes sur le poids des animaux.....	125
1.1-Evolution du poids des animaux .....	125
1.2-Comparaison du poids des animaux .....	125
1.3-Effets des régimes sur le poids des organes .....	126
1.4-Discussion .....	126
II-Effets des régimes sur le statut antioxydant et l'inflammation .....	128
2.1-Effets des régimes sur le statut antioxydant.....	128
2.1.1-Le statut antioxydant plasmatique .....	128
2.1.2-Le statut antioxydant hépatique .....	128
2.2-Effets des régimes sur l'inflammation.....	130
2.3-Discussion .....	132
2.3.1-Effets des régimes sur le statut antioxydant.....	132
2.3.2-Effets des régimes sur l'inflammation.....	134
III-Effets des régimes sur la fonction mitochondriale .....	135
3.1-Caractéristiques de la membrane mitochondriale.....	135
3.2-Activité des enzymes mitochondriales.....	136

3.3-Biogenèse mitochondriale.....	139
3.4-Discussion.....	140
3.4.1-Effets des régimes sur la membrane mitochondriale.....	140
3.4.2-Effets des régimes sur l'activité des enzymes mitochondriales.....	142
3.4.3-Effets des régimes sur la biogenèse mitochondriale.....	143
IV-Effets des régimes sur le métabolisme glucidique .....	143
4.1-Test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale .....	143
4.2-Evaluation de l'insulino-résistance.....	144
4.3-Discussion.....	147
V-Effets des régimes sur le métabolisme lipidique .....	148
5.1-Profil lipidique plasmatique .....	148
5.2-Variation des paramètres de la lipogenèse et de la $\beta$ -oxydation ....	148
5.2.1-Variation des paramètres de la lipogenèse .....	148
5.2.2-Variation des paramètres de la $\beta$ -oxydation .....	150
5.3-Composition en acides gras du foie.....	151
5.4-Infiltrations lipidiques hépatiques et hépatocytolyse.....	153
5.5-Modifications du tissu adipeux .....	155
5.6-Discussion .....	157
5.6.1-Effets des régimes sur le profil lipidique plasmatique .....	157
5.6.2-Effets des régimes sur la $\beta$ -oxydation et la lipogenèse.....	158
5.6.3-Effets des régimes sur le profil lipidique hépatique.....	160
5.6.4-Effets des régimes sur le tissu adipeux.....	162
VI-Effets des régimes sur la réactivité vasculaire .....	163
6.1-Effets des régimes sur la vasoconstriction .....	164
6.2-Effets des régimes sur la vasorelaxation.....	167
6.3-Discussion .....	168
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>171</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>176</b>
<b>Publication .....</b>	<b>251</b>

## **LISTE DES FIGURES**

---

Figure 1 :	Une plantation de palmier à huile.....	9
Figure 2 :	un palmier portant des régimes de noix de palme.....	9
Figure 3 :	Régime de noix de palme.....	9
Figure 4 :	Fruits du palmier à huile.....	10
Figure 5 :	Huile de palme brute.....	10
Figure 6 :	Production mondiale d'huiles végétales.....	11
Figure 7 :	Evolution de la production mondiale d'huile de palme en millions de tonnes de 2004 à 2017.....	12
Figure 8 :	Production mondiale d'huile de palme en 2017.....	13
Figure 9 :	Evolution des exportations et importations mondiales d'huile de palme en million de tonnes pendant les dix dernières années.....	13
Figure 10 :	Principales utilisations de l'huile de palme.....	15
Figure 11 :	Principaux produits de raffinage de l'huile de palme brute A : Oléine de palme B : Stéarine de palme.....	16
Figure 12 :	Consommation mondiale d'huile de palme.....	18
Figure 13 :	Composition panoramique de l'huile de palme brute .....	18
Figure 14 :	Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	35
Figure 15 :	Origines des espèces réactives.....	35
Figure 16 :	Formation des espèces réactives de l'oxygène dans l'organisme.....	38
Figure 17 :	Effets des espèces réactives sur l'ADN, les lipides et les protéines.....	40
Figure 18 :	Rôles de Nrf2 dans les phénomènes d'autophagie (a), d'inflammation (b), du stress du réticulum endoplasmique (c) et de signalisation mitochondriale (d).....	54
Figure 19:	Organisation structurale de la mitochondrie.....	60
Figure 20:	Schéma de la chaîne respiratoire et de la phosphorylation oxydative mitochondriales.....	64
Figure 21:	Schéma de supercomplexe ou respirasome.....	68
Figure 22:	Effets pléiotropes de l'insuline.....	77
Figure 23:	Mécanismes de sensibilité et de résistance à l'insuline dans le muscle et le foie.....	80
Figure 24:	Principales voies de signalisation par l'insuline : voies PI3 kinase et MAP kinase.....	82
Figure 25:	Rôle de l'insuline dans la translocation de GLUT4.....	83

Figure 26: Séparation et révélation des lipides neutres par CCM.....	113
Figure 27 : Pics des lipides neutres obtenus par CCM.....	114
Figure 28: Séparation et révélation des phospholipides par CCM.....	115
Figure 29 : Pics des phospholipides obtenus par CCM.....	116
Figure 30 : Profil chromatographique des acides gras du foie d'un rat nourrit avec de l'huile de palme rouge.....	117
Figure 31 : Courbes d'évolution du poids des rats pendant 12 semaines .....	125
Figure 32 : Comparaison du poids des rats à 12 semaines.....	125
Figure 33 : Effets des régimes sur les infiltrations macrophagiques dans le foie.....	131
Figure 34 : Expression de gènes impliqués dans la biogenèse mitochondriale ....	140
Figure 35 : Effets des régimes sur la phosphorylation d'Akt dans le foie (A), la quantité de GLUT4 total musculaire (B) et la phosphorylation d'Akt dans le muscle en absence (C) ou en présence (D) d'insuline. ....	146
Figure 36 : Effets des régimes sur l'expression hépatique du gène PPAR $\alpha$ (A), la quantité de FAS hépatique (B) et la phosphorylation de l'ACC dans le foie (C) et dans le muscle (D).....	149
Figure 37 : Effets des régimes sur la quantité de CPT1A hépatique (A) et musculaire (B), et sur l'expression de certains gènes impliqués dans la lipolyse hépatiques (C). ....	150
Figure 38 : Effets des régimes sur (A) la teneur hépatique en triglycérides et cholestérol estérifié, et (B) la concentration plasmatique en transaminases. ....	154
Figure 39 : Effets des régimes sur les infiltrations lipidiques dans le foie.....	155
Figure 40 : Coupe histologique montrant la taille des adipocytes des tissus adipeux péri-pancréatique (A) et épидидymaire (B).....	156
Figure 41 : Coupe histologique montrant les infiltrations lipidiques dans le tissu adipeux péri-aortique.....	157
Figure 42: Réponse contractile de l'aorte de rat.....	165
Figure 43: Effet de L-Name sur la réponse à la phényléphrine.....	166
Figure 44: Relaxation dépendante de l'endothélium induite par l'acétylcholine sur des anneaux aortiques pré-contractés par la phényléphrine.....	167
Figure 45: Relaxation indépendante de l'endothélium induite par SNP sur des anneaux aortiques pré-contractés par la phényléphrine.....	168

## **LISTE DES TABLEAUX**

---

Tableau 1 :	Teneur en acides gras de l'huile de palme brute.....	19
Tableau 2 :	Principaux acides gras de l'huile de palme brute.....	20
Tableau 3 :	Répartition des composés non glycéridiques (insaponifiables) de l'huile de palme brute.....	21
Tableau 4 :	Composition de l'huile de palme brute, de l'oléine de palme et de la stéarine de palme.....	24
Tableau 5 :	Proportion (%) des acides gras de l'huile de palme en position 1, 2 ou 3 des triglycérides.....	25
Tableau 6 :	Composition des régimes de l'étude.....	93
Tableau 7:	Composition en acides gras des huiles végétales .....	94
Tableau 8 :	Liste des anticorps primaires utilisés pour les protéines du foie	120
Tableau 9 :	Liste des anticorps primaires utilisés pour les protéines du muscle.....	121
Tableau 10 :	Variation du poids des organes en fonction des régimes .....	126
Tableau 11:	Variation des paramètres du stress oxydant dans le sang .....	129
Tableau 12 :	Variation des paramètres du stress oxydant dans le foie .....	129
Tableau 13 :	Variation des marqueurs de l'inflammation dans le sang, le foie et le muscle.....	130
Tableau 14 :	Potentiel de membrane et composition en phospholipides membranaires .....	137
Tableau 15 :	Composition en acides gras des phospholipides des mitochondries du foie .....	138
Tableau 16 :	Variation de l'activité des enzymes mitochondriales .....	139
Tableau 17 :	Evolution de la glycémie (g/L) au cours de l'IPGTT .....	144
Tableau 18 :	Variation de la glycémie et de l'insulinémie en fonction des régimes .....	145
Tableau 19 :	Profil lipidique plasmatique induit par les régimes .....	148
Tableau 20 :	Composition en acides gras des extraits lipidiques du foie .....	152
Tableau 21 :	Effets des régimes sur la concentration effective maximale moyenne .....	167

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

---

<b>ACC</b>	: Acétyl Coenzyme A Carboxylase
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>ADNc</b>	: Acide désoxyribonucléique complémentaire
<b>ADNmt</b>	: ADN mitochondrial
<b>ADP</b>	: Adénosine diphosphate
<b>AGE</b>	: Produits de glycation avancée
<b>AGI</b>	: Acide gras insaturé
<b>AGL</b>	: Acide gras libre
<b>AGMI</b>	Acide gras monoinsaturé
<b>AGPI</b>	: Acide gras polyinsaturé
<b>AGS</b>	: Acide gras saturé
<b>Akt (PKB)</b>	: Protéine Kinase B
<b>ALAT</b>	: Alanine Aminotransférase
<b>AMPK</b>	: Protéine Kinase activée par l'AMP
<b>ANT</b>	: Adénine nucleotide translocase
<b>AOPP</b>	: Advanced Oxidation protein products
<b>AP</b>	: Acide palmitique
<b>AP-1</b>	: Activated Protein-1
<b>Apo A</b>	: Apolipoprotéine A
<b>Apo B</b>	: Apolipoprotéine B
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique
<b>ASAT</b>	: Aspartate Aminotransférase
<b>ATP</b>	: Adénosine Triphosphate
<b>BHT</b>	: 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluène
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumin
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	: Chlorure de calcium
<b>CAT</b>	: Catalase
<b>CCCP</b>	: Carbonyl Cyanide 3-Chloro phenylhydrazone

<b>CCM</b>	: Chromatographie sur couche mince
<b>CHCl3</b>	: Chloroforme
<b>CH3OH</b>	: Méthanol
<b>ChREBP</b>	: Carbohydrate-responsive element-binding protein
<b>CHU</b>	: Centre Hospitalier Universitaire
<b>CL</b>	: Cardiolipine
<b>CLS</b>	: Cardiolipine synthase
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dioxyde de carbone
<b>COX</b>	: Cytochrome c oxydase
<b>CPG</b>	: Chromatographie en phase gazeuse
<b>CPT1</b>	: Carnitine Palmitoyltransférase 1
<b>CS</b>	: Citrate synthase
<b>CT</b>	: Cholestérol total
<b>DCPIP</b>	: Dichlorophénolindophénol
<b>DGLA</b>	: Dihomo- $\gamma$ -linoléinique
<b>DHA</b>	: Acide docosahexaénoïque
<b>DO</b>	: Densité Optique
<b>DT2</b>	: Diabète de type 2
<b>DTNB</b>	: Acide 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoïque
<b>DTPA</b>	: Acide acétique Diethylenetriaminepenta
<b>DTT</b>	: Dithiothréitol
<b>EDTA</b>	: Ethylène Diamine Tétra Acétique
<b>EGTA</b>	: Ethylene Glycol Tetraacetic Acid
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>ER</b>	: Espèces réactives
<b>ERN</b>	: Espèces réactives de l'azote
<b>ERO</b>	: Espèces réactives oxygénées
<b>ERR</b>	: Estrogen-related receptor
<b>FABP1</b>	: Fatty acid binding protein 1
<b>FAD</b>	: Flavine Adénine Dinucléotide

<b>FADH<sub>2</sub></b>	: Flavine Adénine Dinucléotide réduit
<b>FAS</b>	: Fatty Acid Synthase
<b>FAT/CD36</b>	: Fatty acid translocase
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	: Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	: Fer ferriques
<b>FMN</b>	: Flavine mononucléotide
<b>G6P</b>	: Glucose-6-phosphate
<b>G6PDH</b>	: Glucose 6-phosphate déshydrogénase
<b>GCLC</b>	: Glutamate-cystéine ligase catalytique
<b>GCLM</b>	: Glutamate-cystéine ligase modificatrice
<b>GLUT 4</b>	: Transporteur 4 du glucose
<b>GPx</b>	: Glutathion Peroxydase
<b>GR</b>	: Glutathion Réductase
<b>GSH</b>	: Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	: Glutathion oxydé
<b>HDL</b>	: Lipoprotéine de haute densité
<b>HDL-C</b>	: Cholestérol lié au HDL
<b>HEPES</b>	: 4-(2-HydroxyEthyl)-1-Pipérazine Ethane Sulfonique
<b>HFD</b>	: High fat diet
<b>HK</b>	: Hexokinase
<b>4-HNE</b>	: 4-Hydroxynonénal
<b>HO-1</b>	: Hème oxygénase-1
<b>HOCL</b>	: Acide hypochloreux
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyde d'hydrogène
<b>HOMA-IR</b>	: Homeostasis Model Assessment-estimated Insulin Resistance
<b>HPB</b>	: Huile de palme brute
<b>IFCC</b>	: Fédération Internationale de Chimie Clinique
<b>IκB</b>	: Inhibiteur de NF-κB
<b>IL-1β</b>	: Interleukine-1 beta

<b>IL-6</b>	: Interleukine-6
<b>INT</b>	: 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophénol)-5-phenyltétrazolium chlorure
<b>IPGTT</b>	: IntraPeritoneal Glucose Tolerance Test
<b>IR</b>	: insulino-résistance
<b>KCl</b>	: Chlorure de Potassium
<b>KCN</b>	: Cyanure de potassium
<b>Keap 1</b>	: Kelch-like ECH-associated protein 1
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Dihydrogénophosphate de Potassium
<b>LDL</b>	: Lipoprotéine de faible densité
<b>LDL-C</b>	: Cholestérol lié au LDL
<b>LHS</b>	: Lipase hormonosensible
<b>L-NAME</b>	: NG-nitro-L-arginine methyl ester
<b>LOO<sup>•</sup></b>	: Radicaux lipidiques
<b>LPC</b>	: Lysophosphatidylcholine
<b>MDA</b>	: Malondialdéhyde
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Chlorure de Magnésium
<b>mTERF</b>	: Mitochondrial transcription termination factor
<b>NaCl</b>	: Chlorure de Sodium
<b>NAD</b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé
<b>NADH</b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
<b>NADP</b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Dihydrogénophosphate de Sodium
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nuclear Factor-kappa B
<b>NO<sup>•</sup></b>	: Monoxyde d'azote radicalaire
<b>NOS</b>	: Monoxyde d'azote synthase
<b>NOX</b>	: NADPH Oxydase
<b>NQO1</b>	: NAD(P)H quinone oxydoréductase 1
<b>Nrf1</b>	: Nuclear respiratory factor 1
<b>Nrf2</b> (ou NFE2L2)	: Nuclear factor (erythroid-derived 2) -like 2

<b>O<sub>2</sub></b>	: Dioxygène
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Oxygène singulet
<b>O<sub>2</sub><sup>-•</sup></b>	: Anion superoxyde
<b>•OH</b>	: radical hydroxyle
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Ion hydroxyle
<b>8-OH-dG</b>	: 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	: Peroxynitrite
<b>pACC</b>	: Acétyl Coenzyme A Carboxylase Phosphorylé
<b>PAI-1</b>	: Inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1
<b>pAkt</b>	: Protéine Kinase B phosphorylée
<b>pAMPK</b>	: AMPK phosphorylée
<b>PBS</b>	: Phosphate Buffered Saline
<b>PC</b>	: Phosphatidylcholine
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>PE</b>	: Phosphatidyléthanolamine
<b>PEG</b>	: Polyéthylène glycol
<b>PGC1<math>\alpha</math></b>	: PPAR gamma coactivator 1-alpha
<b>PGC1<math>\beta</math></b>	: PPAR gamma coactivator 1-béta
<b>pH</b>	: Potentiel Hydrogène
<b>PhE</b>	: Phényléphrine
<b>PI</b>	: Phosphatidylinositol
<b>Pi</b>	: Phosphate inorganique
<b>PI3K</b>	: Phosphatidylinositide-3-kinase
<b>PKC<math>\epsilon</math></b>	: Protein kinase C epsilon
<b>PL</b>	: Phospholipide
<b>PMSF</b>	: Fluorure de phénylméthylsulfonyle
<b>POLRMT</b>	: Polymerase RNA Mitochondrial (ARN polymérase mitochondriale)
<b>PPAR</b>	: Peroxisome proliferator-activated receptor
<b>PS</b>	: Phosphatidylsérine

<b>PTP</b>	: Pore de transition de perméabilité
<b>RE</b>	: Réticulum endoplasmique
<b>RHEM</b>	: Réseau d’Histologie Expérimentale de Montpellier
<b>RH 123</b>	: Rhodamine
<b>ROO·</b>	: Radical peroxyde
<b>RT</b>	: RetroTranscriptase
<b>SDS</b>	: Sodium Dodécyl Sulfate
<b>SH</b>	: Groupements thiols
<b>SM</b>	: Sphingomyéline
<b>SNP</b>	: Nitroprussiate de sodium
<b>SOD</b>	: Superoxyde Dismutase
<b>SREBP-1</b>	: Sterol regulatory element-binding protein 1
<b>TAE</b>	: Tissu Adipeux Epididymaire
<b>TAPA</b>	: Tissu Adipeux Péri-Aortique
<b>TAPP</b>	: Tissu Adipeux Péri-Pancréatique
<b>TBA</b>	: Acide Thiobarbiturique
<b>TBARS</b>	: Substances Réactives de l’Acide Thiobarbiturique
<b>tBHP</b>	: Hydroperoxyde de tert-Butyle
<b>TCA</b>	: Acide TrichlorAcétique
<b>TFAM</b>	: Mitochondrial transcription factor A
<b>TFBM</b>	: Mitochondrial transcription factor B
<b>TG</b>	: Triglycéride
<b>TLR4</b>	: Toll-like receptor 4
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tumor necrosis factor – alpha
<b>TNB</b>	: Acide thionitrobenzoïque
<b>TOM</b>	: Translocase of the outer membrane
<b>Tris-HCL</b>	: Tris hydrochloride
<b>VDAC</b>	: Voltage dependent anion channel
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoprotein

# **INTRODUCTION**

L'huile de palme est une huile végétale extraite du fruit du palmier (*Elaeis guineensis*), originaire d'Afrique de l'Ouest et maintenant répandue dans les régions tropicales d'Amérique et d'Asie du Sud-Est. Actuellement, c'est l'huile végétale la plus consommée au monde (Mba, 2015; USDA, 2017).

L'huile de palme brute est appelée huile de palme rouge, en raison de sa couleur rouge liée à sa richesse en caroténoïdes (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Bien que l'huile de palme rouge soit reconnue pour ses bienfaits nutritionnels (Edem, 2002; Ong, 2002; Sen, 2007), les industriels préfèrent une huile de palme désodorisée et décolorée, pour cela le raffinage est obligatoire. Le raffinage aboutit à des produits dérivés tels que l'oléine de palme (riche en acide oléique) et la stéarine de palme (riche en acides gras saturés) (Dunford, 2012; Lecerf, 2013). L'huile de palme rouge et l'oléine de palme sont très utilisées dans les cuisines Africaine, Sud-Américaine et Asiatique. Dans les autres pays, le produit de raffinage le plus consommé est la stéarine de palme (Mba, 2015).

L'huile de palme rouge et l'oléine de palme sont riches en acides gras saturés (AGS), qui représentent environ 50% des acides gras totaux. Les acides gras monoinsaturés (AGMI) et les acides gras polyinsaturés (AGPI) représentent respectivement 40% et 10% des AG totaux (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Sundram *et al.*, 2003; Mondé *et al.*, 2009). La stéarine de palme, qui est sous forme solide, contient 52 à 76 % d'AGS (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Lecerf, 2012, 2013).

Dans les années 1990, la mise en évidence du rôle des acides gras *trans* dans la survenue des maladies cardiovasculaires (MCV) (Mozaffarian, 2006; Iqbal, 2014), a réduit considérablement l'utilisation des huiles partiellement hydrogénées contenant des acides gras *trans*, au profit de la stéarine de palme qui n'en contient pas. Initialement considérée comme déchet de raffinage et utilisée essentiellement par l'industrie cosmétique pour la fabrication de savon, la stéarine de palme devient de ce fait très prisée par l'industrie agro-alimentaire. Du coup, la production mondiale d'huile de palme a augmenté de façon exponentielle. Elle est passée de 20 millions de tonnes en 2000 (USDA, 2013) à 64,495 millions de tonnes en 2017 (USDA, 2017). 90 % de cette production mondiale est destinée à la consommation et 80 % à l'industrie

agro-alimentaire (Dufour, 2014). Par conséquent, l'huile de palme se trouve dans de nombreux produits auxquels elle garantit une texture, un parfum et un goût neutre : les produits de boulangerie, les bonbons, les gâteaux, les analogues de fromage, les chips, les chocolats, les graisses de confiserie, les biscuits, les beignets, les repas et produits surgelés (crêpes, tartes, pizzas, pommes de terre, etc.), les repas instantanés, etc. (Mancini *et al.*, 2015).

Le lien entre la nutrition et la santé a fait l'objet de nombreux débats au cours des dernières décennies. Les effets d'une alimentation riche en AGS, notamment en acide palmitique, ont fait l'objet de plusieurs directives diététiques visant à réduire les MCV (Aranceta et Perez-Rodrigo, 2012; Assmann *et al.*, 2014). En effet, un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2003) a déclaré qu'il y avait des preuves convaincantes que les acides myristique et palmitique augmentaient le risque de MCV.

Son défaut est à priori le corollaire de ses qualités. Riche en AGS, l'huile de palme a des propriétés physico-chimiques particulièrement intéressantes. Elle est très stable à l'oxydation et au chauffage et possède un point de fusion élevé, autant de propriétés qui l'adaptent à de nombreux usages.

L'huile d'olive est une huile végétale réputée pour sa richesse en polyphénols (Owen *et al.*, 2000). De nombreuses études font état des bienfaits nutritionnels des polyphénols de l'huile d'olive (Perez-Jimenez *et al.*, 2005; Covas *et al.*, 2006b). Selon certains auteurs, la consommation d'huile d'olive réduit le risque de survenue du cancer (Trichopoulou *et al.*, 2000; La Vecchia, 2004; Menendez et Lupu, 2006), des MCV (Vincent-Baudry *et al.*, 2005; Ruano *et al.*, 2005; Visioli *et al.*, 2005; Covas *et al.*, 2006a; Estruch *et al.*, 2006) et protège le foie contre la stéatose hépatique (Hernandez *et al.*, 2005; Assy *et al.*, 2009).

A l'instar de l'huile d'olive, outre sa teneur en acides gras, l'huile de palme est naturellement riche en différents phytonutriments (vitamine E, caroténoïdes, Coenzyme Q, stérols, etc.) jugés bénéfiques pour la santé humaine du point de vue nutritionnel pour leurs propriétés antioxydantes (Qureshi *et al.*, 1991; Ng *et al.*, 2002; Tiahou *et al.*, 2004; Azlina *et al.*, 2005; Suzana *et al.*, 2005; Rooyen *et al.*, 2008).

La teneur en AGS de l'huile de palme est voisine de celle du saindoux, qui est composé de 45 % d'AGS (Indrasti *et al.*, 2010; Rohman *et al.*, 2012).

Du fait de sa teneur élevée en AGS (50 %), notamment en acide palmitique, l'huile de palme est accusée d'être potentiellement nocive pour la santé (Bester *et al.*, 2010; Fattore et Fanelli, 2013; Fattore *et al.*, 2014; Odia *et al.*, 2015). Certains auteurs (Renaud *et al.*, 1995; Kritchevsky *et al.*, 2000) ont montré que ce sont les AG en position *sn-2* sur le glycérol qui sont bio-disponibles et qui influencent le profil lipidique et les autres métabolismes de l'organisme. Par ailleurs, dans l'huile de palme, la position centrale *sn-2* est occupée à près de 85% par des AGMI et AGPI alors que les AGS sont en position *sn-1* et *sn-3*, donc non biodisponibles (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Ainsi, Cette richesse en AGS qui pour certains constituent un désavantage, est plutôt une subtilité biologique liée à la distribution des acides gras sur les positions 1, 2 et 3 du glycérol.

Pour mettre en évidence les bienfaits nutritionnels de l'huile de palme (rouge ou oléine) nous avons entrepris cette étude dont l'objectif général était de montrer les effets d'un régime riche en huile de palme (rouge ou oléine) sur le statut antioxydant, la fonction mitochondriale et les désordres métaboliques associés à l'obésité. Pour ce faire, nous avons comparé les effets biologiques de l'huile de palme (rouge ou oléine) à ceux de l'huile d'olive et du saindoux.

Les objectifs spécifiques visent à :

- 1- Evaluer le niveau de défense antioxydante par la détermination de l'activité de la SOD, la catalase, la GPx et l'expression du gène de NRF2, NQO1, HO1 et GCLC plasmatiques et hépatiques.
- 2- Déterminer l'intensité du stress oxydant par le dosage dans le sang et dans le foie de TBARS, de la 15-F2t-isoprostane et des groupements thiols.
- 3- Apprécier l'intensité de l'inflammation par le dosage de l'IL-6 plasmatique, la détermination de l'infiltration macrophagique par le marquage du foie au CD68, et de l'expression du gène de Nf-kB, Ik-B, IL1- $\beta$  hépatiques et la quantification par western blot de Nf-kB, Ik-B musculaires.

- 4- Apprécier la fonction mitochondriale par la détermination des caractéristiques de la membrane mitochondriale, la détermination de l'activité de la cardiolipine synthase, de la citrate synthase et des complexes de la chaîne respiratoire, et la quantification par qPCR de l'expression de gènes impliqués dans la biogenèse mitochondriale : PGC1- $\alpha$ , NRF1 et TFAM.
- 5- Evaluer l'insulino-résistance par le dosage de la glycémie, de l'insulinémie, la détermination du test de tolérance au glucose par voie intra-péritonéale, le calcul de l'indice HOMA-IR, la quantification par western blot de GLUT4 musculaire, de Akt et p-Akt musculaires et hépatiques.
- 6- Déterminer le profil lipidique par le dosage du CT, des TG et du cholestérol des HDL.
- 7- Evaluer la lipogenèse et la  $\beta$ -oxydation par la quantification par western blot de CPT1-A, FAS, ACC et p-ACC hépatiques et musculaires, la détermination par qPCR de l'expression des gènes PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$ , FAT/CD36 et FABP1 hépatiques.
- 8- Apprécier l'infiltration lipidique hépatique et l'hépatocytolyse par la réalisation de coupes histologiques du foie colorées au Red Oil O, le dosage de l'ASAT et l'ALAT plasmatiques, du cholestérol estérifié et des TG hépatiques.
- 9- Evaluer la réactivité vasculaire par l'appréciation de la vasoconstriction et de la vasorelaxation.

**REVUE DE LA  
LITTERATURE**

## **I-CE QU'IL FAUT SAVOIR SUR L'HUILE DE PALME**

### **1.1-LE PALMIER A HUILE**

#### **1.1.1-Origine**

Le palmier à huile est un monocotylédone appartenant au genre *Elaeis* et à la famille des *Arecaceae*. Le genre *Elaeis* comprend deux espèces, à savoir *Elaeis guineensis* Jacq. et *Elaeis oleifera* (Rees, 1965). *E. oleifera* est originaire d'Amérique du Sud. *E. guineensis* Jacq. ou éléis de Guinée est ainsi appelé car il a été découvert pour la première fois dans les forêts pluviales le long du golfe de Guinée par Nicholaas Jacquin en 1763 (Corley, 1976). Il est admis que *E. guineensis* Jacq. est originaire des pays d'Afrique tropicale (Bénin, Côte d'Ivoire, Kenya, Nigéria, Ouganda, République démocratique du Congo, Sénégal, Sierra Leone, Tanzanie, Togo) où il pousse à l'état sauvage dans les zones tropicales humides.

*E. guineensis* Jacq., originaire d'Afrique de l'Ouest, a été introduit pour la première fois au Brésil et dans d'autres pays tropicaux au XV<sup>e</sup> siècle par les portugais (Corley, 1976). Le palmier à huile de l'Afrique Occidentale a été introduit en Indonésie en 1848 par les Hollandais. De là, il fut envoyé au jardin botanique de Singapour en 1875 et amené ensuite en Malaisie en 1878. Dans ces pays le palmier à huile a été utilisé comme plante d'ornement jusqu'à la création des premières plantations commerciales à partir de 1917 (Sundram *et al.*, 2003).

#### **1.1.2-Culture**

Le palmier à huile est exclusivement cultivé dans les zones tropicales humides où il constitue une importante source de devises pour les économies locales, à la fois pour l'exportation et comme matière première pour l'industrie locale. Le palmier à huile se rencontre principalement en Afrique, en Amérique du Sud, au Sud-Est asiatique et dans le Pacifique Sud (Corley *et al.*, 1976; Hartley, 1977).

Dans les pays d'Afrique, les palmeraies se sont développées de façon naturelle. Divers exemples de développement naturel du palmier à huile ont été observés au cours de la période contemporaine au Cameroun (Letouzey,

1978), en Casamance (Doumbia, 1966), en Centrafrique, secteur de Bangassou (Boulvert, 1986), en Côte d'Ivoire (Schnell, 1946), au Ghana (Swaine et Hall, 1986); en Guinée (Roy, 1957; Fairhead et Leach, 1995), au Gabon (Le Testu, 1938; Walker, 1953), au Liberia (Seymour, 1858), au Nigéria (Keay, 1959; Clayton, 1961), en Ouganda (Thomas, 1936; Ergo, 1997), en Sierra Leone (Schnell, 1946), au Togo et au Bénin (Aubrèville, 1937), etc. Il a aussi été constaté que la dissémination des noyaux de ce palmier était le fait de certains animaux tels que les Toucans, les Perroquets et les Chimpanzés dont les excréments en contiennent souvent en abondance (Schnell, 1946; Villiers, 1981).

Les spécialistes (agronomes, botanistes, anthropologues, etc.) qui ont effectué des enquêtes sur le terrain et ont examiné les pratiques traditionnelles de l'exploitation du palmier à huile, concluent que les Africains ne plantent quasiment jamais ce palmier mais se contentent d'exploiter des peuplements naturels (Zeven, 1967; Swaine, 1992). Ces derniers ont constaté que les peuplements naturels de palmier à huile évoluaient au niveau du contact forêt/savane. C'est ainsi que le palmier à huile participait directement à des phases de reconquête et d'avancée forestière sur la savane.

La culture proprement dite du palmier à huile remonte à l'époque coloniale (Zeven, 1967). Les plus anciennes palmeraies industriels d'Afrique remontent aux années 1910/1920 (Zeven, 1967). Cette culture industrielle du palmier à huile (*figure 1*) est aujourd'hui responsable de la déforestation.

Notre étude ayant porté sur l'espèce *Elaeis guineensis* Jacq., toutes les informations ci-dessous concernent cette espèce.

### **1.1.3-Fruits**

Le fruit du palmier à huile ou noix de palme, est une drupe charnue, de forme ovoïde, sessile. Les noix de palme sont groupées en régimes (*figures 2 et 3*). Un régime peut porter jusqu'à 1500 drupes et peut peser jusqu'à 25 kg (De Berchoux *et al.*, 1986). Le fruit du palmier à huile est fait de trois parties : la pulpe ou mésocarpe, le noyau et l'amande. La pulpe ou mésocarpe, de couleur jaune-orangé est à la base de l'huile de palme. La pulpe contient un noyau très dur ou coque. A l'intérieur du noyau on trouve la graine ou amande,



Figure 1 : Une plantation de palmier à huile  
(Jacquemard, 1995)



Figure 2 : un palmier portant des régimes de noix de palme (De Berchoux *et al.*, 1986)

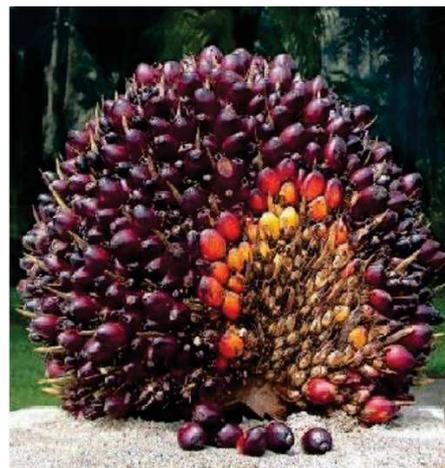


Figure 3 : Régime de noix de palme (De Berchoux *et al.*, 1986)

appelée palmiste qui fournit l'huile de palmiste (*figure 4*). L'amande comprend un tégument mince et adhérent, un albumen cartilagineux et un embryon (Jacquemard, 1995).



Figure 4 : Fruits du palmier à huile  
(De Berchoux *et al.*, 1986)

## 1.2-L'HUILE DE PALME

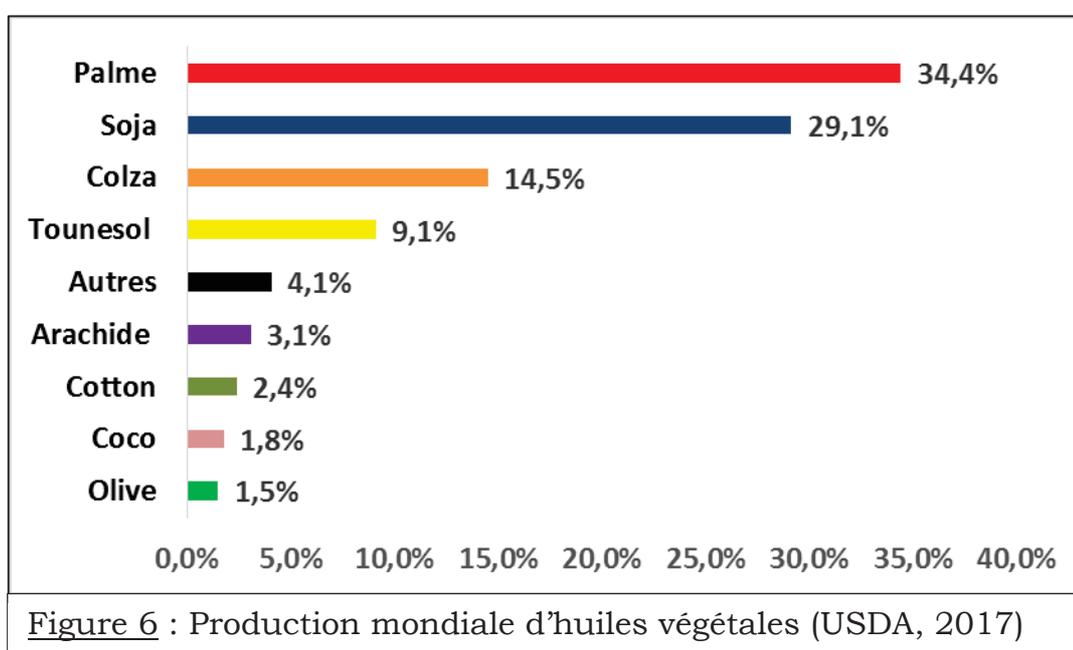
L'huile de palme est une huile végétale extraite par pression à chaud de la pulpe des fruits du palmier à huile. Elle ne doit pas être confondue avec l'huile de palmiste qui provient de noyau du fruit. L'huile de palme brute est appelée huile de palme rouge, en raison de sa couleur rouge liée à sa richesse en caroténoïdes (*figure 5*). Cette huile est, le plus souvent, vendue et consommée raffinée, c'est-à-dire après décoloration et désodorisation.



Figure 5 : Huile de palme brute

### 1.2.1-Production et échanges mondiaux

L'huile de palme est l'huile végétale la plus produite au monde (USDA, 2017). Elle représente 34,4 % de la production mondiale d'huile végétale (figure 6). Le palmier à huile est la plante oléagineuse la plus productrice, avec des rendements moyens de l'ordre de 6t/ha et plus de 10t/ha dans les meilleurs essais génétiques. Cette plante oléagineuse est 7 à 10 fois plus productrice que ses concurrentes directes cultivées dans les pays tempérés (soja, colza et tournesol). Le palmier à huile n'occupe que 7 % des surfaces agricoles en oléagineux alors que celles consacrées au soja, colza ou tournesol sont respectivement de 61 %, 18 % et 14 % (Rival et Levang, 2013).



La production mondiale d'huile de palme est en nette croissance. Elle est passée de 20 millions de tonnes (Mt) en 2000 (USDA, 2013) à 64,495 millions de tonnes en 2017 (figure 7) (USDA, 2017). Deux pays se sont fortement engagés dans la culture du palmier à huile depuis les années 1960 et se partagent la grande majorité de la production : l'Indonésie et la Malaisie (figure 8). En 2017, ces deux pays ont produit 85 % de l'huile de palme mondiale, avec respectivement 35 Mt et 20 Mt; loin devant la Thaïlande en Asie (2,3 Mt), la Colombie en Amérique latine (1,28 Mt) et le Nigéria en Afrique (0,97 Mt) (USDA, 2017). La production d'huile de palme s'est fortement

industrialisée, avec 60 % de la production assurée par de grands groupes intégrés (exploitant à la fois des plantations et des raffineries) et 40 % par de petits exploitants.

Les exportations mondiales d'huile de palme ont considérablement augmenté (*figure 9*). Elles sont passées de 26 Mt en 2005 (Kapseu, 2009) à 47,49 Mt en 2017 (USDA, 2017). En 2017, l'Indonésie et la Malaisie ont été les plus grands exportateurs d'huile de palme avec respectivement 25,7 Mt (73 % de la production) et 17,5 Mt (80 % de la production). Ils sont suivis de loin par le Bénin (580 Mt), la Papouasie Nouvelle Guinée (560 Mt) et le Guatemala (485 Mt) (USDA, 2017).

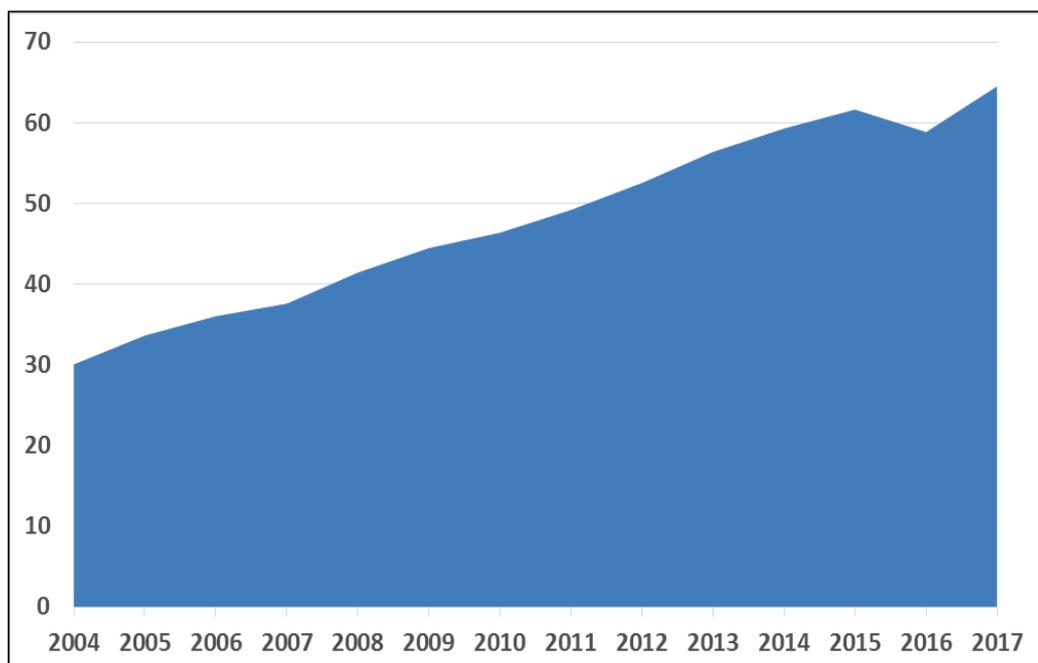
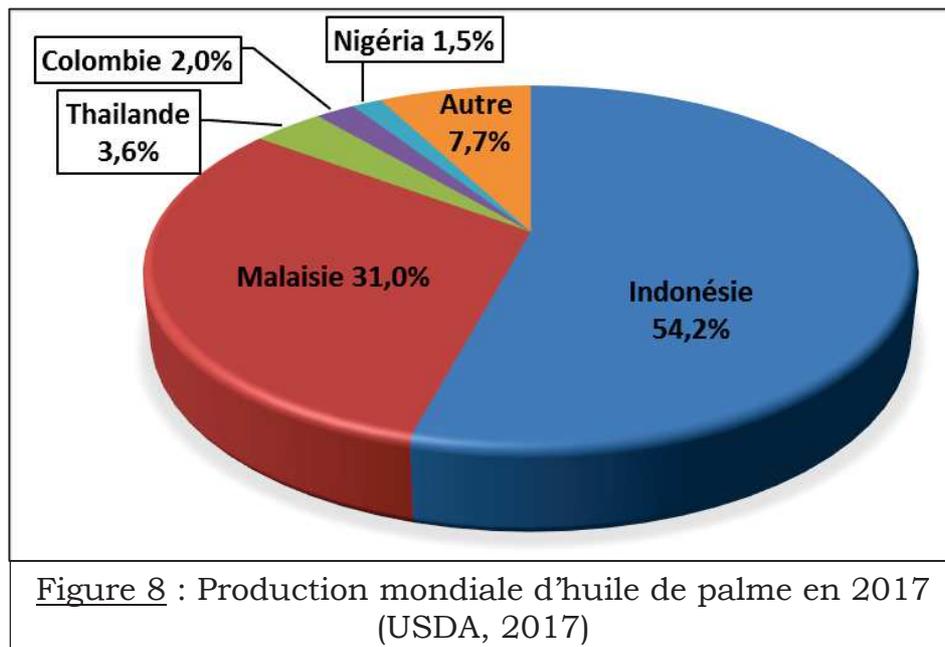
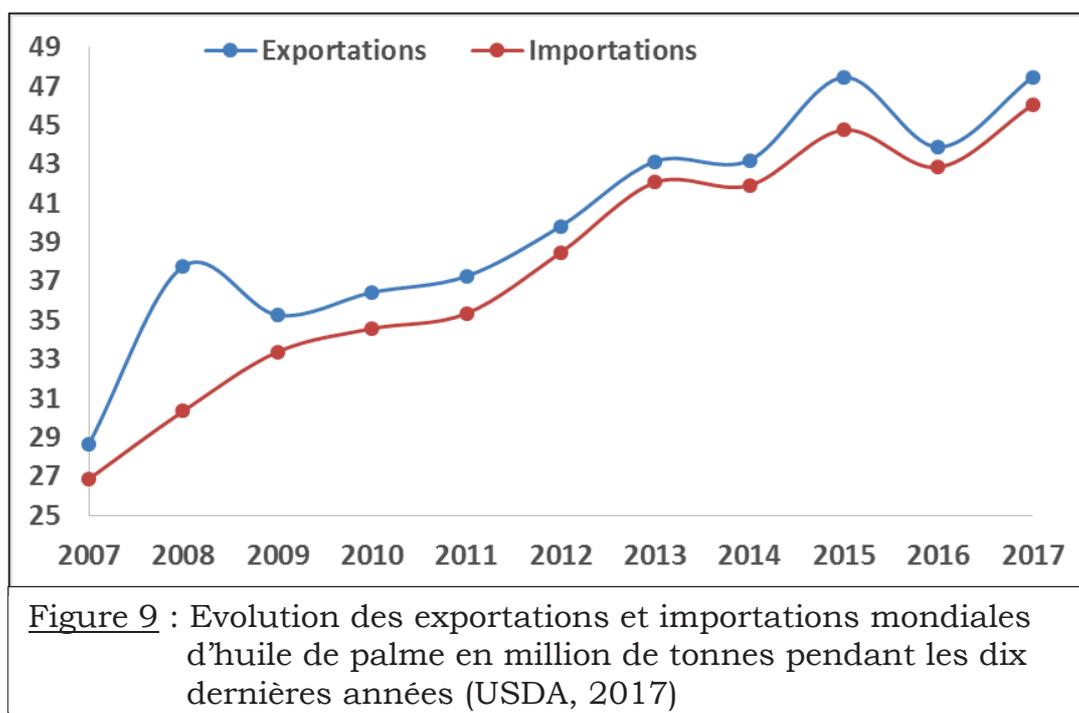


Figure 7 : Evolution de la production mondiale d'huile de palme en millions de tonnes de 2004 à 2017 (USDA, 2017)



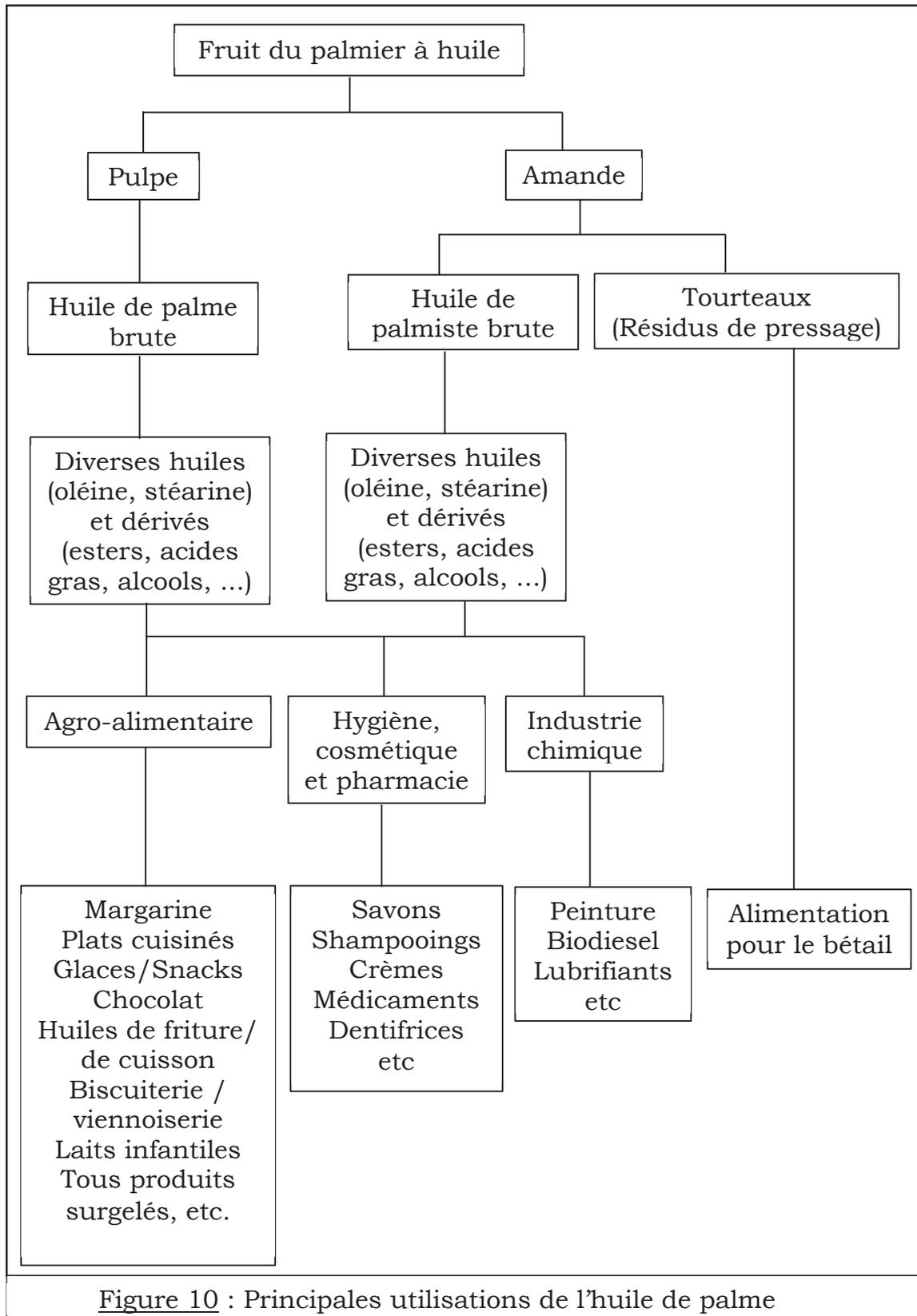
Les importations d'huiles de palme ont aussi augmenté, elles sont passées de 21,79 Mt en 2003 à 46,07 Mt en 2017 (*figure 9*). A ce jour, l'Inde est de loin la plus grande importatrice d'huile de palme avec 10 Mt. Elle est suivie par l'Europe, la Chine et le Pakistan avec respectivement 6,650 Mt, 5,100 Mt et 3,100 Mt (USDA, 2017).



### 1.2.2-Différentes formes d'utilisation de l'huile de palme

Le palmier à huile, premier fournisseur de corps gras végétal de la planète devant le soja (Mba, 2015; USDA, 2017), est cultivé pour ses deux huiles comestibles : l'huile de palme rouge (18 à 26 % du poids frais du régime) et l'huile de palmiste (2 à 3 % du poids frais du régime) (Dronne et Forslund, 2009). Traditionnellement employée comme huile de cuisson, l'huile de palme est aujourd'hui utilisée à travers ses très nombreux dérivés et se retrouve dans des milliers de produits (*figure 10*).

Bien que l'huile de palme rouge (huile brute) soit reconnue pour ses bienfaits nutritionnels (Edem, 2002; Ong, 2002; Sen, 2007), les industriels préfèrent produire une huile de palme désodorisée et décolorée, en utilisant des procédures de raffinage. Ce raffinage peut être basé sur méthodes chimique (traitement par des alcalins ou acides) (Cmolik et Pokorny, 2000; Dunford, 2012) ou des méthodes physiques (raffinage à la vapeur, décapage inerte de gaz, distillation moléculaire, etc.) (Gunstone, 2011; Dunford, 2012). Viennent ensuite, les étapes de blanchiment et de désodorisation, ainsi que d'autres traitements spécifiques en fonction du premier procédé de raffinage appliqué. Après raffinage, le produit obtenu va subir un fractionnement pour donner des fractions dérivées : l'oléine ou super-oléine de palme (une huile incolore, fade et stable, riche en acide oléique) et la stéarine de palme (un corps gras, riche en acides gras saturés) (Dunford, 2012; Lecerf, 2013) (*figure 11*). Le raffinage entraîne une perte importante des caroténoïdes et une perte modérée des vitamines E (Tarmizi et Lin, 2008). D'autre part, Tan *et al.*, (2001) ont identifié dans les effluents liquides des broyats des fruits du palmier à huile d'autres micro-constituants, à savoir, les flavonoïdes et les acides phénoliques.



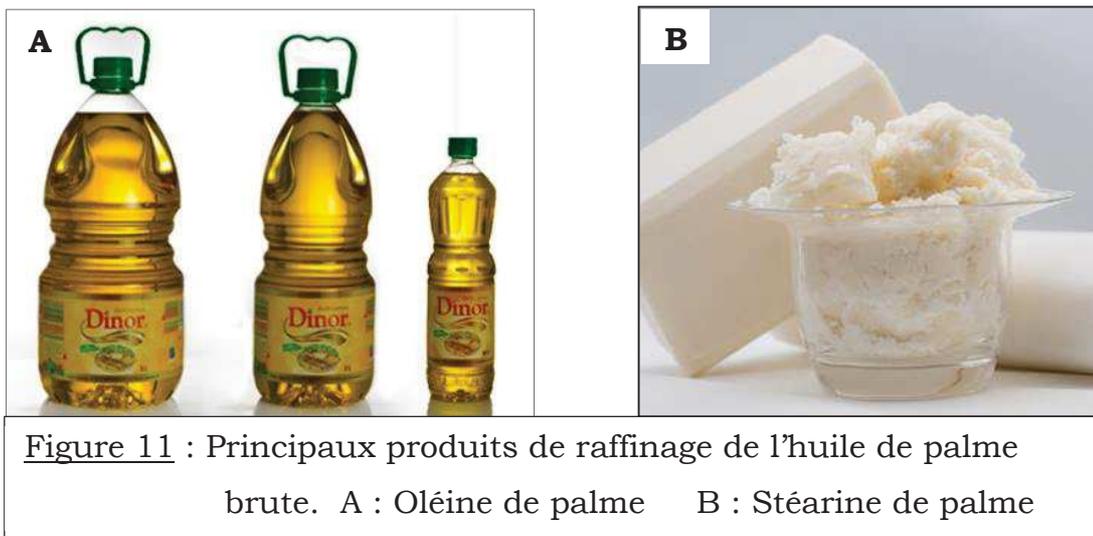


Figure 11 : Principaux produits de raffinage de l'huile de palme brute. A : Oléine de palme B : Stéarine de palme

L'huile de palme brute (HPB) et l'oléine de palme sont des ingrédients essentiels de la cuisine Africaine, et se retrouvent également dans les plats Sud-Américains et Asiatiques. Dans les autres pays, le produit de raffinage le plus consommé est la stéarine de palme (Mba, 2015).

La mise en évidence du rôle des acides gras *trans* dans la survenue des maladies cardiovasculaires (Mozaffarian, 2006; Iqbal, 2014), a réduit considérablement l'utilisation des huiles hydrogénées contenant les acides gras *trans* au profit de la stéarine de palme qui n'en contient pas. Pour ce faire, la stéarine est très prisée par l'industrie agro-alimentaire. 90 % de la production mondiale d'huile de palme est destinée à la consommation et répartie comme suit : i) 80 % pour l'industrie agro-alimentaire, ii) 10 à 15 % pour l'industrie pharmaco-chimique et cosmétique et iii) moins de 10 % pour l'agro-carburant (Dufour, 2014). Bien que minoritaires, ces deux dernières applications sont en progression.

L'huile de palme se trouve dans de nombreux produits : les produits de boulangerie, les bonbons, les gâteaux, les analogues de fromage, les chips, les chocolats, les graisses de confiserie, les biscuits, les craquelins, les beignets, les repas et produits surgelés (crêpes, tartes, pizzas, pommes de terre, etc.), la crème glacée, les nouilles instantanées, les flocons d'avoine, les margarines, les pop-corn, le beurre d'arachide, les sauces à salade, les soupes, etc. (Mancini *et al.*, 2015).

La consommation mondiale d'huile de palme a doublé tous les 10 ans depuis 40 ans, en tête des pays consommateurs il y a l'Inde (10,150 Mt) et l'Indonésie (9,470 Mt). Ils sont suivis de l'Europe et la Chine avec respectivement 6,65 Mt et 5,050 Mt d'huile de palme consommées (*figure 12*) (USDA, 2017).

Outre le fruit, d'autres parties du palmier sont fréquemment utilisées : la sève fermentée donne le vin de palme ou l'alcool de palme, le cœur est utilisé dans l'alimentation comme du chou, le stipe (tronc) est utilisé dans l'ébénisterie et les palmes (feuilles) sont utilisées dans la vannerie et pour la toiture.

### **1.2.3-Constituants de l'huile de palme**

Comme toute huile fluide ou concrète, l'huile de palme brute est composée d'une grande variété de constituants (*figure 13*). Les triglycérides sont très largement majoritaires (95-99 %). Ils sont composés de glycérol (3-5 %) et d'acides gras (90-95 %). A côté des constituants majeurs glycéridiques, l'huile de palme brute contient des composés dits mineurs : la vitamine E (tocophérols et tocotriénols), les caroténoïdes, les phytostérols, le squalène, les composés phénoliques, etc. (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Morin et Pages-Xatant-Pares, 2012).

#### *1.2.3.1-Constituants majeurs de l'huile de palme*

Les constituants majeurs de l'huile de palme sont les acides gras. L'huile de palme est constituée d'environ 50 % d'acides gras saturés (AGS) et 50 % d'acides gras insaturés (AGI) (*tableau 1*). Sa richesse en acides gras saturés la rend semi-solide à température ambiante, son point de fusion se situe entre 35 et 42 °C. Les principaux AG de l'huile de palme (*tableau 2*) sont les acides myristique (C14 :0), palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), oléique (C18 :1) et linoléique (C18 :2). Les doubles liaisons présentes dans les AGI sont de configuration *cis*. (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Sundram *et al.*, 2003; Mondé *et al.*, 2009; Lecerf, 2013).

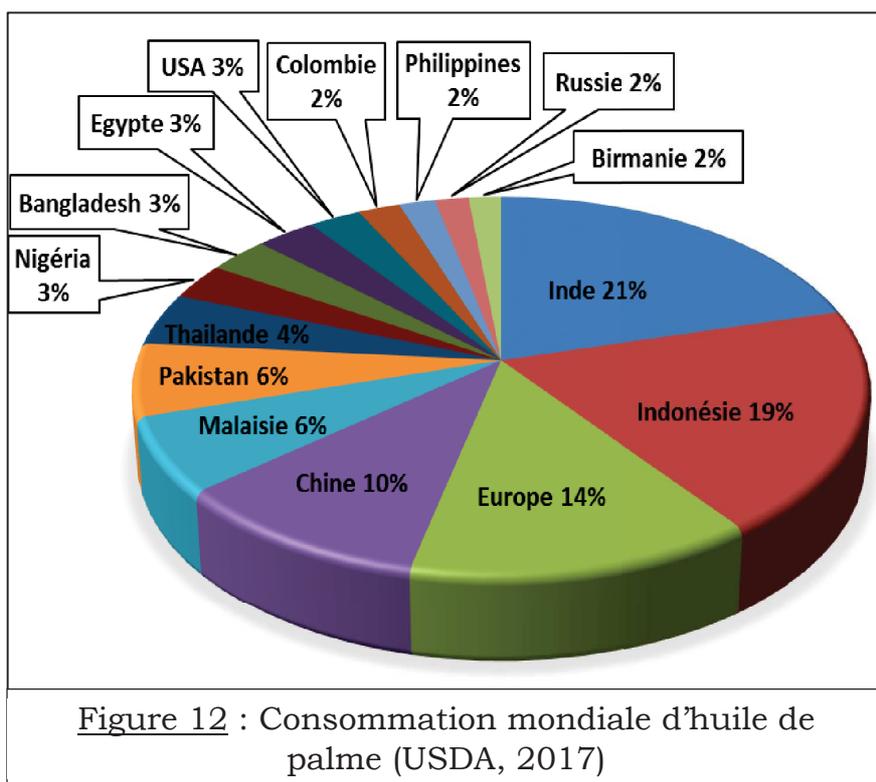


Figure 12 : Consommation mondiale d'huile de palme (USDA, 2017)

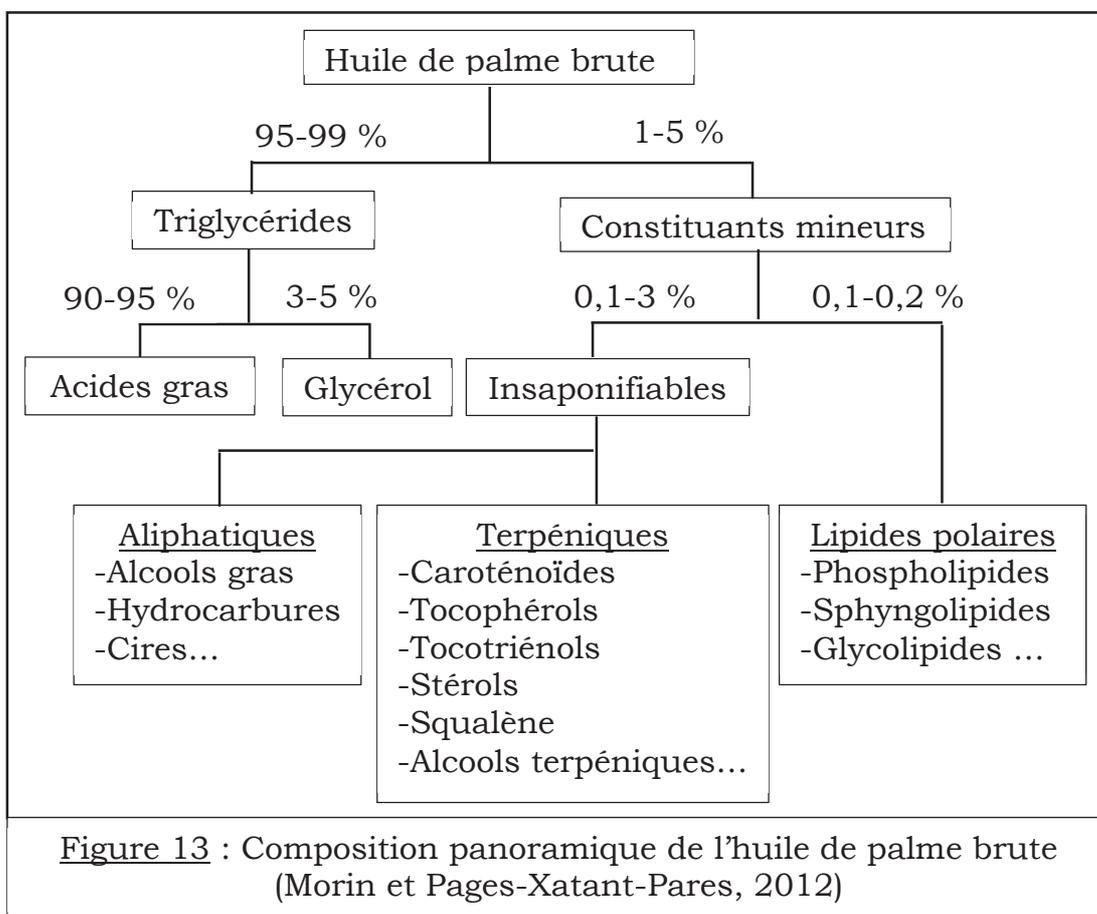


Figure 13 : Composition panoramique de l'huile de palme brute (Morin et Pages-Xatant-Pares, 2012)

### 1.2.3.2-Constituants mineurs de l'huile de palme

Lors de l'extraction d'huile à partir du mésocarpe, les TG hydrophobes attirent d'autres composants cellulaires solubles dans l'huile, il s'agit des constituants dits « mineurs » de l'huile de palme. Ces derniers sont représentés par les phosphatides, les stérols, les pigments, la vitamine E (les tocots), les traces de métaux, des monoglycérides, des diglycérides et des acides gras libres (Cottrell, 1991; Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

Les constituants mineurs peuvent être divisés en deux groupes. Le premier groupe se compose des dérivés d'acides gras (les saponifiables), tels que les glycérides partiels (mono et diglycérides), les phosphatides, les esters

Tableau 1 : Teneur en acides gras de l'huile de palme brute (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Sundram *et al.*, 2003; Mondé *et al.*, 2009; Lecerf, 2013).

<b>Acides gras</b>	<b>Pourcentage</b>
Acides gras saturés	45 – 55
Acide laurique C12 :0	< 0,5
Acide myristique C14 :0	0,5 – 2
Acide palmitique C16 :0	39,5 – 47,5
Acide stéarique C18 :0	3,5 – 6
Acides gras monoinsaturés	38 – 45
Acide oléique C18 :1n-9	36 – 44
Acides gras polyinsaturés	9 – 12
Acide linoléique C18 :2n-6	9 – 12
Acide $\alpha$ -linoléique C18 :3n-3	< 0,5

et les stérols. Le deuxième groupe est constitué de composés non liés chimiquement aux acides gras (les insaponifiables), tels que les hydrocarbures, les alcools aliphatiques, les stérols libres, la vitamine E, les pigments et les traces de métaux (*tableau 3*).

Tableau 2 : Principaux acides gras de l'huile de palme brute  
(Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Sundram *et al.*, 2003;  
Mondé *et al.*, 2009)

<b>Acides gras</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Variation observée</b>	<b>Ecart type</b>
Acide laurique C12 :0	0,3	0 – 1	0,12
Acide myristique C14 :0	1,1	0,9 – 1,5	0,08
Acide palmitique C16 :0	43,5	39,2 – 45,8	0,95
Acide palmitoléique C16 :1n-7	0,2	0 - 0,4	0,05
Acide stéarique C18 :0	4,3	3,7 – 5,1	0,18
Acide oléique C18 :1n-9	39,8	37,7 – 44,1	0,94
Acide linoléique C18 :2n-6	10,2	8,7 – 12,5	0,56
Acide $\alpha$ -linoléique C18 :3n-3	0,3	0 – 0,6	0,07
Acide arachidique C20 :0	0,2	0 – 0,4	0,16

#### 1.2.3.2.1-Les pigments

La pigmentation des fruits du palmier à huile est liée à leur degré de maturité. Deux classes de pigments naturels sont retrouvées dans l'huile de palme brute : les caroténoïdes et les chlorophylles. L'huile de palme issue des jeunes fruits de palmiers contient plus de chlorophylle et moins de caroténoïdes que l'huile issue des fruits mûrs. Ces pigments interviennent dans les mécanismes d'auto-oxydation, de photo-oxydation et d'anti-oxydation à l'intérieur de la plante (Tan *et al.*, 1986).

Les caroténoïdes sont les précurseurs de la vitamine A, avec une forte activité provitaminique A pour les  $\beta$ -carotènes. Les caroténoïdes sont le plus souvent à l'état *trans* et sont divisés en deux principales classes. Il s'agit des carotènes, strictement constitués d'hydrocarbures de polyène et des xanthophylles qui contiennent l'oxygène. Le plus simple des carotènes est le lycopène. L'huile de palme brute a une couleur rouge due à sa richesse en carotène (500-700 mg/kg). Il y'a environs onze différents types de caroténoïdes dans l'HPB, les principaux étant le phytoène, le cis- $\beta$ -carotène, le  $\beta$ -carotène,

**Tableau 3** : Répartition des composés non glycéridiques (insaponifiables) de l'huile de palme brute (Sambanthamurthi *et al.*, 2000)

<b>Composés</b>	<b>Pourcentage</b>	<b>Quantité (mg/kg)</b>
<i>Caroténoïdes</i>		
α-carotène	36.2	
β- carotène	54.4	500 – 700
γ-carotène	3.3	
Lycopène	3.8	
Xanthophylles	2.2	
<i>Vitamine E</i>		
α-tocophérol	28	
α-tocotriénol	29	500 – 800
γ-tocotriénol	28	
δ-tocotriénol	14	
<i>Stérols</i>		
Cholestérol	4	
Campestérol	21	~300
Stigmastérols	21	
β-sitostérols	63	
<i>Phosphatides</i>		500 – 1000
<i>Alcools totaux</i>		
Alcools triterpènes	80	~800
Alcools aliphatiques	20	

l'α-carotène, le cis-α-carotène, le ζ-carotène, le γ-carotène, le δ-carotène, le neurosporène, le β-zéa carotène, l'α-zéa carotène et le lycopène (Yap *et al.*, 1997; Mondé *et al.*, 2009). Les caroténoïdes majeurs de l'huile de palme sont les α et β carotènes, qui représentent près de 90 % des caroténoïdes totaux (Yap *et al.*, 1997; Mondé *et al.*, 2009).

#### 1.2.3.2.2-La vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui se compose de deux familles : les tocophérols et les tocotriénols. Les tocophérols sont structurellement caractérisés par une chaîne latérale saturée, alors que les tocotriénols possèdent une chaîne latérale insaturée. Les tocotriénols sont rares dans les huiles végétales à l'exception des huiles de palme, d'orges et du son de riz. Les tocophérols et tocotriénols sont constitués de quatre différentes formes naturelles différentes ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) qui ont des degrés variables d'activités antioxydantes et vitaminiques E. Actuellement, grâce aux progrès technologiques, des extraits de tocotriénols d'huile de palme sont disponibles dans le commerce (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). La teneur en vitamine E de l'HPB varie entre 500 à 800 mg/kg, celle-ci étant alors sous forme d'un mélange de tocophérols (18-22 %) et de tocotriénols (78-82 %). Les principaux tocotriénols présents dans l'huile de palme sont l'alpha-tocotriénol (22 %), le gamma-tocotriénol (46 %) et le delta-tocotriénol (12 %) (Tan et Oh, 1981; Mondé *et al.*, 2009).

#### 1.2.3.2.3-Les stérols et les terpènes

Les stérols constituent une fraction non négligeable de la partie insaponifiable de l'huile et leur taux dans l'huile de palme est de l'ordre de 0,03 % de la composition totale. La fraction stérolique (326-627 mg/kg) de l'huile de palme est constituée majoritairement de campesterol, stigmasterols,  $\beta$ -sitostérol, et très minoritairement de cholestérol, de  $\Delta^5$ -avenasterol et de  $\Delta^7$ -stigmastérol. La plupart de ces stérols sont relativement inertes et ne contribuent pas aux propriétés importantes de l'huile de palme (Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

Les terpènes de l'huile de palme sont essentiellement des alcools triterpéniques qui représentent 0,02 % des insaponifiables (Fedeli *et al.*, 1966; Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Il s'agit d'un groupe complexe de constituants végétaux qui se composent principalement de cinq cycles cyclohexane condensés avec 30 atomes de carbone. Ils peuvent être séparés des stérols par chromatographie et les rares terpènes identifiés dans l'huile de palme brute

comprennent le cycloartérol, le 24-méthylèncycloartanol, le cycloartanol et la  $\beta$ -amyrine (Itoh *et al.*, 1973; Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

#### 1.2.3.3-Effets du raffinage sur les constituants de l'huile de palme

Le raffinage a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques (goût et odeur neutres, limpidité, couleur jaune clair), nutritionnels et la stabilité des corps gras. Pour ce faire, il met en œuvre plusieurs étapes pour éliminer les composés indésirables (gommes, cires, acides gras libres, pigments, traces métalliques, composés odorants volatils, etc.) et les contaminants potentiellement présents dans les matières premières, tout en maîtrisant la formation de nouveaux composés indésirables par hydrolyse, oxydation ou isomérisation (Morin et Pages-Xatant-Pares, 2012; Obibuzor *et al.*, 2012). Mais au cours du raffinage de l'HPB il y'a aussi perte de caroténoïdes et de vitamine E (*tableau 4*).

L'HPB a une teneur extrêmement élevée en caroténoïdes (500-700 mg/kg) rendant compte de sa couleur rouge. La quasi-totalité des caroténoïdes est éliminée lors du raffinage (décoloration et désodorisation), de sorte que l'oléine de palme n'en contienne qu'environ 10 mg/kg (Lecerf, 2013). Si la perte en caroténoïdes est importante, la perte en vitamine E (l' $\alpha$ -tocophérol) est modérée lors du raffinage (Tamizi *et al.*, 2008). On observe également une perte de micro-constituants tels les flavonoïdes et les acides phénoliques qui sont de puissants antioxydants (Tan *et al.*, 2001).

Hormis ces pertes, le raffinage améliore la qualité de l'oléine de palme qui est à ce jour la forme la plus consommée dans les pays producteurs d'huile de palme (Wattanapenpaiboon et Wahlqvist, 2003). En effet, par rapport à l'HPB, l'oléine de palme est moins riche en AGS et plus riche en AGI (acide oléique) et en vitamine E (tocophérols et tocotriénols) (*tableau 4*).

#### 1.2.4-Propriétés spécifiques et qualités nutritionnelles

L'huile de palme joue un rôle important au plan nutritionnel et au plan spécifique. L'HPB représente la plus riche source naturelle de caroténoïdes (500-700 ppm), de tocophérols et de tocotriénols (500-800 ppm). Toutes ces composantes contribuent à sa stabilité et lui confèrent ses propriétés

nutritionnelles (Sundram *et al.*, 2003; Tiahou *et al.*, 2004; Souganidis *et al.*, 2013). Leurs propriétés antioxydantes, exercées principalement contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), jouent un rôle dans le vieillissement et dans la prévention des MVC et du cancer (Edem, 2002; Ong et Goh, 2002;

**Tableau 4** : Composition de l'huile de palme brute, de l'oléine de palme et de la stéarine de palme (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Lecerf, 2012, 2013)

	<b>HPB</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Stéarine de palme</b>
Acides gras saturés (%)	45-55	45,8	52-76
Acide laurique C12 :0	< 0,5	0,1-0,2	0,1-0,2
Acide myristique C14 :0	0,5-2	0,9-11	1-1,3
Acide palmitique C16 :0	39,5-47,5	39-41	46,5-68,9
Acide stéarique C18 :0	3,5-6	3,8-4,4	4,1-5,5
Acides gras monoinsaturés (%)	38-45	42,6	20-39
Acide oléique C18 :1n-9	36-44	42	20-38
Acides gras polyinsaturés (%)	9-2	11,6	4,2-9,5
Acide linoléique C18 :2n-6	9-12	11	4-9
Acide $\alpha$ -linoléique C18 :3n-3	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Caroténoïdes (mg/kg)	500-800	10	-
Total vitamine E (mg/kg)	693	824	273
$\alpha$ -tocophérols (mg/kg)	188	173	50
Total tocophérols (mg/kg)	188	193	50
Total tocotriénols (mg/kg)	505	627	223

Balasundram *et al.*, 2005). En outre, les tocotriénols sont reconnus comme étant des inhibiteurs naturels de la synthèse du cholestérol (Sen *et al.*, 2007).

#### 1.2.4.1-Qualités nutritionnelles

Sur le plan nutritionnel, l'huile de palme renferme 50 % d'AGS, principalement de l'acide palmitique (44 %). Cette richesse en AGS, notamment en acide palmitique, est au centre des débats liés aux potentiels effets néfastes de l'huile de palme (Fattore *et al.*, 2014; Odiá *et al.*, 2015). Il a été démontré que ce sont les AG en position 2 sur le glycérol (position *sn-2*)

qui sont bio-disponibles et qui influencent le profil lipidique et les autres métabolismes de l'organisme (Renaud *et al.*, 1995; Kritchevsky *et al.*, 2000). D'autre part, dans l'huile de palme, la position centrale (position *sn-2*) au niveau de la molécule de glycérol est occupée à près de 85% par des AGMI et AGPI (*tableau 5*) (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Ainsi, les AGS sont en position *sn-1* et *sn-3* donc non biodisponibles. Cette richesse en AGS mise en avant par certains auteurs et présentée comme étant un facteur négatif, ne doit pas occulter le positionnement des AG sur le triglycéride, qui semble plutôt favorable.

L'huile de palme et le beurre de cacao ont un positionnement similaire leurs acides gras saturés dans les triglycérides, qui est l'inverse de celui observé dans la graisse de porc.

Tableau 5 : Proportion (%) des acides gras de l'huile de palme en position 1, 2 ou 3 des triglycérides (Sambanthamurthi *et al.*, 2000)

<b>Acides gras</b>	<b>Position 2</b>	<b>Position 1, 3</b>
Acide myristique C14 :0	0,96	1,42
Acide palmitique C16 :0	16,03	62,77
Acide stéarique C18 :0	1,37	5,73
Acide oléique C18 :1n-9	62,68	24,52
Acide linoléique C18 :2n-6	18,95	5,52

Chez l'homme, les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique sont strictement essentiels, car ils ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent par conséquent lui être fournis par l'alimentation. L'huile de palme est une source d'acide linoléique car il en contient 12 %. L'huile de palme est l'huile la plus riche en tocotriénols (Sundram *et al.*, 2003; Sen *et al.*, 2010). De nombreuses études attribuent aux tocotriénols plusieurs propriétés. Les tocophérols et tocotriénols sont des antioxydants ayant un rôle biologique d'éboueurs des radicaux libres *in vivo* et ils contribuent également à la stabilité de l'huile de palme. Les tocophérols peuvent interrompre l'oxydation des lipides par inhibition de la formation des hydroperoxydes. En plus de son rôle de

scavenger des radicaux libres, l' $\alpha$ -tocophérol est fortement actif vis-à-vis de l'oxygène singulet en protégeant l'huile contre la photosensibilisation oxydante. Les tocotriénols peuvent contribuer à diminuer le cholestérol plasmatique en inhibant l'hydroxyméthylglutaryl-CoA (HMGCoA) réductase, ce qui diminue la synthèse endogène du cholestérol (Qureshi *et al.*, 1991; Parker *et al.*, 1993; Song et Boyd, 2006) avec comme corollaire une diminution du risque d'athérosclérose (Tomeo *et al.*, 1995; Qureshi *et al.*, 2002; Rasool *et al.*, 2008). Chez l'animal, les tocotriénols exercent des effets anti-cancérigènes (Edem, 2002; Sundram *et al.*, 2003). Les tocotriénols possèdent des propriétés anti-angiogéniques (Miyazawa *et al.*, 2008; Shibata *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2009; Selvaduray *et al.*, 2012), anti-inflammatoires (Yam *et al.*, 2009), antioxydantes (Suarna *et al.*, 1963; Azlina *et al.*, 2005; Suzana *et al.*, 2005), anti-diabétique (Budin *et al.*, 2009; Muharis *et al.*, 2010) et neuroprotectrices (Sen *et al.*, 2000; Khanna *et al.*, 2005; Sen *et al.*, 2010). Les tocotriénols seraient impliqués dans la prévention de l'ostéoporose (Hermizi *et al.*, 2009; Ima Nirwana *et al.*, 2012) et des maladies de la peau (Yamada *et al.*, 2009; Shibata *et al.*, 2010). De nombreuses données sont en faveur du caractère cardioprotecteur des tocotriénol (Vasanthi *et al.*, 2012; Wong et Radhakrishnan, 2012).

Les caroténoïdes agissent comme précurseurs de la vitamine A. Ils sont impliqués dans : i) la prévention de la cécité nocturne (Wattanapenpaiboon et Wahlqvist, 2003; Rice et Burns, 2010), ii) l'amélioration de la teneur en vitamine A des femmes allaitantes et des nourrissons (Canfield et Kaminsky, 2000; Lietz *et al.*, 2000), iii) l'amélioration des concentrations sériques de rétinol (Stuijvenberg et Benade, 2000) et iv) la lutte contre la carence en vitamine A (Rao, 2000; Scrimshaw, 2000). Les caroténoïdes peuvent également protéger contre les maladies cardiovasculaires (Rooyen *et al.*, 2008) et bloquer la croissance de diverses cellules cancéreuses (Zhang *et al.*, 1999; Toniola *et al.*, 2001; Nesaretnam *et al.*, 2002; Tamimi *et al.*, 2005).

Le Coenzyme Q10, également connu sous le nom d'ubiquinone, est un coenzyme naturel de l'huile de palme. Son pouvoir antioxydant est dix fois plus puissant que celui des caroténoïdes et de la vitamine E (Ng *et al.*, 2002), mais comparativement sa teneur dans l'huile de palme est plus faible. En plus

d'être un puissant antioxydant et un piègeur de radicaux libres efficace (Niklowitz *et al.*, 2007), le Coenzyme Q10 joue également un rôle vital dans la chaîne de transport d'électrons de la mitochondrie. Il a été utilisé dans le traitement de nombreuses maladies cardiovasculaires (Burke *et al.*, 1994; Verma *et al.*, 2007) et des études ont également démontré ses effets anticancéreux (Portakal *et al.*, 2000).

L'huile de palme constitue également une source importante de composés phénoliques notamment d'acides phénoliques dont les effets antioxydants sont maintenant bien connus (Neo *et al.*, 2010; Mondé *et al.*, 2011).

#### 1.2.4.2-Propriétés spécifiques et applications

La composition en acides gras saturés de l'huile de palme (50 %) et la structure de ses triglycérides lui confèrent des propriétés physiques (fusion, solidification) et chimiques (stabilité) fonctionnelles tout à fait particulières, le plus souvent bien adaptées aux problématiques posées au début des années 2000, de recherche de matières grasses alternatives contenant peu ou pas d'acides gras *trans*.

L'huile de palme est, à ce jour, la matière grasse la plus utilisée dans les produits manufacturés grâce à des atouts majeurs comparés aux autres matières grasses existantes, qu'elles soient d'origine animale ou végétale. Parmi ces atouts nous trouvons (Du Plessis et Meredith, 1999; Razali, 2005; Morin et Pages-Xatant-Pares, 2012) :

- une résistance accrue à l'oxydation, permettant un allongement de la durée de vie des produits ;

- une consistance solide qui permet de conférer aux aliments une texture onctueuse ou croquante ou croustillante tout en évitant le recours à l'hydrogénation partielle des huiles végétales (colza, tournesol, etc.), ce dernier procédé étant à la fois coûteux et à l'origine d'acides gras *trans* nocifs pour la santé ;

- une absence de goût prononcé ;

- une bonne résistance à forte température, celle-ci restant stable en cuisson et même après plusieurs fritures.

### 1.3-HUILE DE PALME ET SANTE

Au cours des dernières décennies, l'interaction significative entre la santé et la nutrition a fait l'objet de nombreux débats. Les effets d'une alimentation riche en AG, notamment en AGS, ont fait l'objet de plusieurs directives diététiques visant la réduction des MCV (Aranceta et Perez-Rodrigo, 2012; Assmann *et al.*, 2014), des maladies liées à l'obésité et, récemment, la prévention des cancers (Berger, 2014). Du fait de sa teneur élevée en AGS (50 %) l'huile de palme est accusée d'être potentiellement nocive pour la santé (Bester *et al.*, 2010; Fattore et Fanelli, 2013).

#### **1.3.1-Huile de palme et maladies cardiovasculaires**

Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent la principale cause de décès dans le monde. Les conséquences cardiovasculaires de la consommation d'huile de palme s'inscrivent dans le problème général du rôle des acides gras saturés, en raison de l'augmentation du LDL-cholestérol qu'ils induisent. Depuis 1950, des auteurs ont démontré que des teneurs élevées en AGS dans les régimes alimentaires sont des puissants prédictors de MCV. Ces auteurs ont fourni une équation spécifique pour prédire le taux de cholestérol sérique à partir de l'apport d'AGS (Keys *et al.*, 1984; Kromhout *et al.*, 1989; Menotti *et al.*, 1989). Il a ainsi été postulé qu'une consommation excessive d'AGS est responsable d'hypercholestérolémie, et qu'une augmentation de la cholestérolémie de 20 mg/ml déterminerait un risque cardiovasculaire supérieur à 12 % (Verschuren *et al.*, 1995). Dès lors, certaines études épidémiologiques et cliniques ont montré que le risque cardiovasculaire augmentait avec la consommation d'AGS (Kagan *et al.*, 1974; Keys *et al.*, 1986; Shekelle *et al.*, 1981). Toutefois, d'autres études épidémiologiques montrent que cette relation est faible (Esrey *et al.*, 1996; Hu *et al.*, 1999) ou nulle (Boniface et Tefft, 2002). Une méta-analyse publiée en 2010 sur les études prospectives n'a pas mis en évidence de relation statistiquement significative entre acides gras saturés et risque de maladie coronarienne, cardiovasculaire ou vasculaire cérébrale (Siri-Tarino *et al.*, 2010). En outre, d'autres études ont échoué à démontrer sans équivoque

l'association entre la consommation d'acide palmitique et l'augmentation du risque cardiovasculaire (Clandinin *et al.*, 1999; Clandinin *et al.*, 2000).

Il faut noter que le lien entre MCV et la consommation d'acides gras saturés est soumis à de nombreux facteurs confondants (apports en cholestérol, fiabilité des recueils alimentaires, prise en compte des autres lipides alimentaires, nature des hydrates de carbone des régimes, etc.) expliquant en partie les résultats discordants des études.

Les dyslipidémies étant fortement impliquées dans la survenue des MCV, le profil lipidique des consommateurs d'huile de palme a été comparé à celui des consommateurs d'huile de soja (contenant plus d'AGPI que d'AGS) (Utarwuthipong *et al.*, 2009; Fattore et Fanelli, 2013), d'huile d'olive (riche en acide oléique, un AGMI) (Truswell, 2000; Fattore et Fanelli, 2013), d'huile de tournesol (riche en acide oléique et en AGPI) (Truswell, 2000; Fattore et Fanelli, 2013) et d'huile de canola (riche en AGMI) (Vega-López *et al.*, 2006; Fattore et Fanelli, 2013). Aucune différence significative n'a été observée dans les différents profils lipidiques. Dans certains cas, des variations du taux de cholestérol, sans incidence sur les rapports CT/HDL-C ou LDL-C/HDL-C, ont été observées. En outre, la consommation d'huile de palme n'a pas affecté de façon significative le rapport ApoB/ApoA-I (Marzuki *et al.*, 1991; Sundram *et al.*, 1997).

Le rôle des AGS dans les MCV est lié à leur nombre de carbones et leur position sur les TG (Ong et Goh, 2002; Favé *et al.*, 2004; Karupaiah et Sundram, 2007). En fait, les facteurs de risque cardiovasculaires (CT, LDL-C, HDL-C et VLDL-C) sont plus importants lorsque les principaux AGS du régime sont des AG à courte chaîne de carbone : acide laurique (C12 :0) et acide myristique (C14 :0). En effet, les acides laurique et myristique augmentent toutes les fractions du cholestérol (favorables et défavorables) de façon plus importante que ne le fait l'acide palmitique (C16 :0) ; ce dernier augmente toutes les fractions du cholestérol (favorables et défavorables) que l'acide stéarique (C18 :0) (Kromhout *et al.*, 1995; Clarke *et al.*, 1997).

Sur le plan métabolique, une réduction excessive des lipides et en particulier des AGS, entraîne une lipogenèse hépatique accrue à partir des glucides alimentaires, surtout en cas d'insulino-résistance, avec comme

conséquences une synthèse accrue de triglycérides hépatiques riches en acide palmitique, incorporés dans les VLDL et conduisant dans ce cas à des LDL de petite taille qui sont très athérogènes (Dreon *et al.*, 1998, 1999, 2000; Lefevre *et al.*, 2005; Krauss *et al.*, 2006). Ce qui explique qu'une réduction isolée des lipides n'entraîne pas un bénéfice cardiovasculaire, mais provoque un effet inverse en cas de risque cardiovasculaire ou métabolique préalable associé (syndrome métabolique par exemple) (Mozaffarian *et al.*, 2004; Howard *et al.*, 2006). Il a aussi été démontré qu'un apport élevé en AGS n'est pas délétère lorsque le régime est hypoglycémique (Forsythe *et al.*, 2010). L'interaction glucides/AGS est donc très importante à considérer. Cependant, un excès d'AGS n'est cependant pas souhaitable, car outre son effet hypercholestérolémiant, il pourrait exercer un effet pro-inflammatoire à dose élevée (Walrand *et al.*, 2010). Mais il n'y a pas sur le plan cardiovasculaire de justification à un apport plus faible que celui recommandé par l'ANSES (Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Mai 2011).

L'athérogénicité d'un régime étant également liée au degré de saturation des acides gras situés en position *sn-2* des TG (Renaud *et al.*, 1995; Kritchevsky *et al.*, 2000). Ainsi, le profil lipidique équilibré des consommateurs d'huile de palme est probablement une conséquence au fait que dans cette huile, 85 % des AG en position *sn-2* sont des AGI et que, de ce fait, les AGS majoritairement en position *sn-1* et *sn-3* sont finalement moins bio-disponibles (Renaud *et al.*, 1995; Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

De nombreuses données sont en faveur du caractère cardioprotecteur des tocotriénols (Vasanthi *et al.*, 2012; Wong et Radhakrishnan, 2012). Des études d'intervention sur l'athérosclérose ont été menées chez l'animal. Chez la souris ApoE déficiente, les tocotriénols inhibent les lésions d'athérosclérose (Black *et al.*, 2000; Qureshi *et al.*, 2001). Chez le lapin rendu athérosclérotique, l'huile de palme a un effet identique aux autres huiles sur le nombre de lésions d'athérosclérose (Hornstra, 1988) et induit le plus faible degré d'athérosclérose avec l'huile de tournesol. Plusieurs données suggèrent que l'effet bénéfique de l'huile de palme rouge sur l'athérosclérose serait lié à sa forte teneur en caroténoïdes et en tocotriénols (Kritchevsky *et al.*, 2002). Chez l'homme, une

supplémentation en tocotriénols issus de l'huile de palme pourrait aussi réduire l'athérosclérose carotidienne (Tomeo *et al.*, 1995; Ong et Goh, 2002).

### **1.3.2-Huile de palme et autres pathologies**

#### *1.3.2.1-Huile de palme et diabète de type 2*

Le rôle de l'huile de palme dans la survenue du diabète de type 2 (DT2) serait lié à sa teneur élevée en AGS, notamment en acide palmitique (AP) (*tableau 1*). En effet, des études *in vitro* ont montré que l'AP affecte directement la signalisation de l'insuline des hépatocytes et des myotubes de rat en culture, ainsi que la capacité des cellules pancréatiques à sécréter l'insuline (Yang *et al.*, 2013). Trois théories expliquent ces actions de l'AP: (1) dans les cellules d'insulinome de rat, l'AP provoque une toxicité par stress lipotoxique au niveau du réticulum endothélial (RE). Ce mécanisme, exercé par différents AGS, a été observé dans divers types de cellules (Wei *et al.*, 2006; Diakogiannaki *et al.*, 2008; Jiao *et al.*, 2013; Simon-Szabó *et al.*, 2014). En outre, les AGS peuvent interagir directement avec les couches membranaires du RE avec comme conséquence la perturbation de sa morphologie et de sa fonction (Ariyama *et al.*, 2010); (2) l'AP altère fortement la phosphorylation et donc l'activation du substrat 1 du récepteur de l'insuline et Akt dans plusieurs types de cellules, contribuant ainsi à l'apparition de l'insulino-résistance (IR) (Mordier et Iynedjian, 2007); (3) l'AP facilite l'ubiquitination et, par conséquent, provoque la dégradation par le protéasome du substrat 1 du récepteur de l'insuline et Akt (Ishii *et al.*, 2015).

Le rôle de la consommation de l'huile de palme dans le diabète est controversé car, il est difficile de faire la distinction exacte entre les effets de l'huile de palme et ceux des autres composantes lipidiques. Certains éléments de preuve indiquent que le régime huile de palme altère la tolérance au glucose chez la souris (Kochikuzhyil *et al.*, 2010). Ce résultat peut être relié à l'augmentation du taux plasmatique des TG induit par l'huile de palme car une telle augmentation a été associée à l'insulino-résistance (Storlien *et al.*, 2000). Sur le tissu adipeux épидidymaire de rat, le traitement avec l'huile de palme a entraîné une diminution de la pénétration cellulaire du glucose par rapport au traitement avec l'huile de tournesol (Van Amelsvoort *et al.*, 1986).

Des études menées chez l'homme ont donné des résultats contradictoires. Quatre semaines de régime à base d'huile de palme chez 30 patients atteints de DT2 n'ont eu aucun effet significatif sur la concentration plasmatique du glucose (Kritchevsky et Sundram, 2002). D'autre part, la plus grande étude de cohorte, réalisée chez 12403 diabétiques, a indiqué que différents AGS (acide myristique, acide palmitique et acide stéarique) avaient des effets différenciés sur l'incidence du diabète. Fait intéressant, cette étude a montré que la consommation accrue de glucides et d'alcool stimule la biosynthèse endogène de l'AP par le biais de la lipogenèse *de-novo* (Forouhi *et al.*, 2014). Pour ces auteurs, il est difficile de situer l'effet de l'AP sur le risque de survenue du diabète selon son origine (endogène ou exogène).

#### 1.3.2.2-Huile de palme et cancer

La relation entre l'huile de palme et le cancer tient également à sa richesse en acides gras. En effet, la relation entre un régime riche en acides gras et le risque de cancer a fait l'objet de nombreuses études (WCRF/ACIR, 2007). Dans les études réalisées chez les animaux, les régimes riches en graisse ont pu influencer la croissance des tumeurs d'origines variées. Il a été rapporté que les AGPI de la voie *n-6* stimulent le développement et la progression du cancer du sein, du cancer colorectal et du cancer de la prostate (Bartsch *et al.*, 1999; Kolonel *et al.*, 1999), alors que les AGPI de la voie *n-3*, et en particulier ceux d'origine marine, inhibent la croissance tumorale (Escrich *et al.*, 2006). Les comparaisons de l'incidence du cancer et de la mortalité entre les pays et la consommation d'AGS ont montré de fortes corrélations, en particulier pour les cancers colorectaux, du sein et de la prostate (Armstrong et Doll, 1975; Carroll, 1991). Cependant, ces corrélations sont potentiellement biaisées par certains facteurs confondants tels que les autres variables nutritionnelles ou le mode de vie y compris ceux liés au développement économique, car la plus forte incidence de cancer a été observée dans les pays occidentaux.

Différents effets des AGS et AGMI ont été signalés sur la prolifération cellulaire et le développement de la tumeur aussi bien *in-vitro* que *in-vivo* (Hardy *et al.*, 2000; Rossini *et al.*, 2013). Bien que des études *in-vitro* et *in-vivo*

aient montré un effet pro-tumoral important des AGPI *n*-6, faible des acides palmitique et stéarique et un effet protecteur des AGPI *n*-3 (Tsubura *et al.*, 2009), les études épidémiologiques et de cas-témoins n'ont pas donné de résultats concluants chez l'homme. Par exemple, concernant le cancer colorectal, une étude cas-témoins (Kuriki *et al.*, 2006) a été menée en utilisant la composition des acides gras dans les membranes érythrocytaires comme biomarqueurs. Le risque s'est révélé positivement associé à la composition de la membrane érythrocytaire en acide palmitique, ainsi qu'au taux d'AGS et au rapport AGS/AGPI, et inversement associé au taux d'AGPI ainsi que celui des acides arachidonique et docosahexaénoïque. Cependant, ces associations n'ont pas été trouvées avec un régime composé des mêmes acides gras. Une autre étude cas-témoins prospective a montré que les AGMI totaux, les acides palmitique, stéarique et oléique étaient positivement associés au risque de cancer colorectal de façon dose dépendante (Theodoratou *et al.*, 2007). Par contre, les associations n'ont plus persisté après ajustement de l'apport énergétique. Dans une méta-analyse de 13 études de cohorte prospectives sur le cancer colorectal, aucune association n'a été observée entre l'ingestion d'AG et l'augmentation du risque de cancer (Liu *et al.*, 2011).

Au total, les études sur le rôle des AG dans le risque de cancer donnent des résultats contradictoires et les preuves ne sont toujours pas cohérentes. Les données épidémiologiques ne confirment pas le rôle des AGS en ce qui concerne la carcinogénèse. Sur la base de ces travaux, les recommandations de santé publique visant à réduire l'apport alimentaire en graisse totale pour la prévention du cancer ne sont pas très clairement étayées (Kushi et Giovannucci, 2002).

Outre sa teneur en acides gras, l'huile de palme est naturellement riche en différents phytonutriments jugés bénéfiques pour la santé humaine du point de vue nutritionnel et pour leur activité antioxydante et leur rôle protecteur dans la tumorigénèse (Edem, 2002; Sundram *et al.*, 2003; Nesaretnam *et al.*, 2012), notamment par une diminution des marqueurs de la proangiogénèse (Selvaduray *et al.*, 2012). La première preuve claire a été publiée dans les années 1990 par Nesaretnam *et al.*, (1995) qui ont montré que la fraction riche en tocotriénol de l'huile de palme inhibait la prolifération

des cellules de cancer du sein humain et que l'huile de palme dépourvue de vitamine E ne protégeait pas contre la tumorigénèse mammaire chez le rat. Les  $\alpha$ ,  $\delta$  et  $\gamma$ -tocotriénols étaient les composants spécifiques qui, seuls ou en combinaison, avaient de telles propriétés anti-cancéreuses, suggérant des applications thérapeutiques possibles pour la prévention et le traitement du cancer du sein.

Un rôle protecteur de la vitamine E dans le cancer a également été suggéré par des études épidémiologiques (Negri *et al.*, 1996, 2000; Alkhenizan et Hafez, 2007; Bidoli *et al.*, 2009; Pelucchi *et al.*, 2009; Bravi *et al.*, 2011; Myung *et al.*, 2011), bien qu'il n'y ait pas de preuve concluante. Des méta-analyses sur les cancers gastro-intestinaux (Bjelakovic *et al.*, 2004; Arain et Abdul Qadeer, 2010; Papaioannou *et al.*, 2011), les cancers de la prostate (Stratton et Godwin, 2011) et les cancers du sein (Fulan *et al.*, 2011) n'ont montré aucune preuve convaincante d'un rôle protecteur de la vitamine E et d'autres suppléments antioxydants.

Ce bref aperçu de la littérature ne montre pas de preuves convaincantes d'un effet promoteur des acides gras de l'huile de palme dans la survenue du cancer. Il semblerait plutôt que les composants mineurs de cette huile puissent avoir des effets inhibiteurs sur la croissance des cellules cancéreuses.

## **II- LE STRESS OXYDANT**

Le stress oxydant se définit comme étant un processus physiologique ou physiopathologique résultant d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives (ER) et la capacité antioxydante de l'organisme, en faveur des ER (Boveris *et al.*, 1972). Autrement dit, le stress oxydant traduit une incapacité de l'organisme à se défendre contre les ER.

### **2.1-LES ESPECES REACTIVES**

Les espèces réactives ont été mises en évidence pour la première fois en 1971 dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Loschen *et al.*, 1971). Les espèces réactives se divisent en deux familles : les espèces réactives de

l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN). Elles peuvent être de nature radicalaire ou non (*figure 14*).

Un radical se définit comme une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique lui conférant ainsi une grande réactivité. La production d'ER peut être soit d'origine endogène soit due à des facteurs exogènes (*figure 15*) tels que les métaux lourds, les rayonnements ionisants et les rayons ultra-violet, les polluants atmosphériques tels que la fumée de cigarette, mais également des médicaments (paracétamol, anthracyclines...) (Valko *et al.*, 2007).

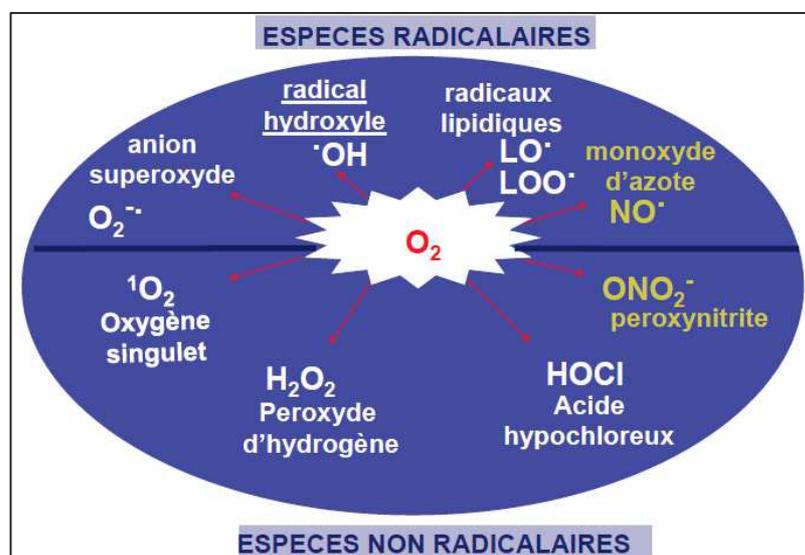


Figure 14 : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Les ERO sont en blanc et les ERN sont en jaune)

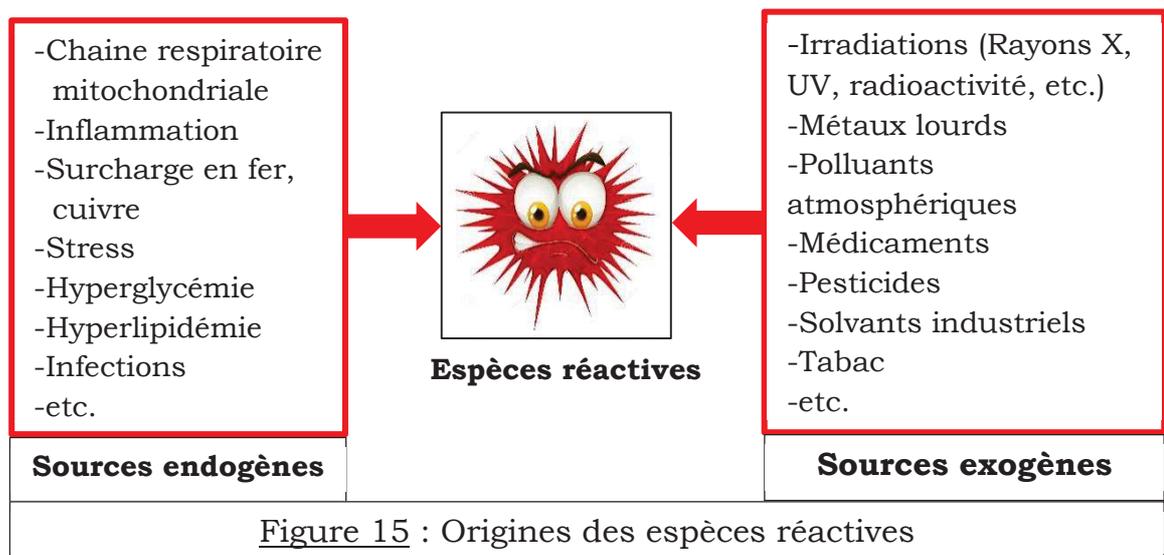


Figure 15 : Origines des espèces réactives

## 2.1.1-Les espèces réactives de l'oxygène

### 2.1.1.1-Origines des espèces réactives de l'oxygène

Grâce à sa chaîne respiratoire, la mitochondrie est la principale source d'énergie de l'organisme. Cependant, environ 0,4 à 4 % d'électrons de cette chaîne respiratoire vont réagir directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme, donnant ainsi naissance à une partie des ERO générées par la cellule (Haleng *et al.*, 2007). Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), les radicaux peroxydes ( $ROO^{\bullet}$  ou  $LOO^{\bullet}$ ) soit des molécules non radicalaires dont la toxicité est importante telles que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ).

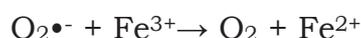
La *figure 16* résume la formation des ERO dans l'organisme. L'anion superoxyde provient de la réduction monovalente de l'oxygène. Il gagne un électron et devient un radical chargé négativement (a). La dismutation spontanée ou catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) de l'anion superoxyde conduit à la formation d'oxygène à l'état fondamental et de peroxyde d'hydrogène (b) (Andreyev *et al.*, 2005) :



Le peroxyde d'hydrogène a un pouvoir oxydant important et une capacité importante à traverser les membranes lui permettant de diffuser à distance de son lieu de production. En présence de fer (réaction de Haber et Weiss, 1934), il se dismute en ion hydroxyle ( $OH^-$ ) et en radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ) dont la cytotoxicité est importante.



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde, qui régénère  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  (Haber et Weiss, 1934) :



Le peroxyde d'hydrogène peut en présence d'une myeloperoxydase, réagir avec le chlore pour donner l'acide hypochloreux et le radical hydroxyle (Jolival *et al.*, 1996)



Les radicaux peroxydes sont formés à partir d'AGPI de façon enzymatique et non enzymatique. La formation non enzymatique est une réaction radicalaire en chaîne (Esterbauer *et al.*, 1992).



(Me = fer ou cuivre)

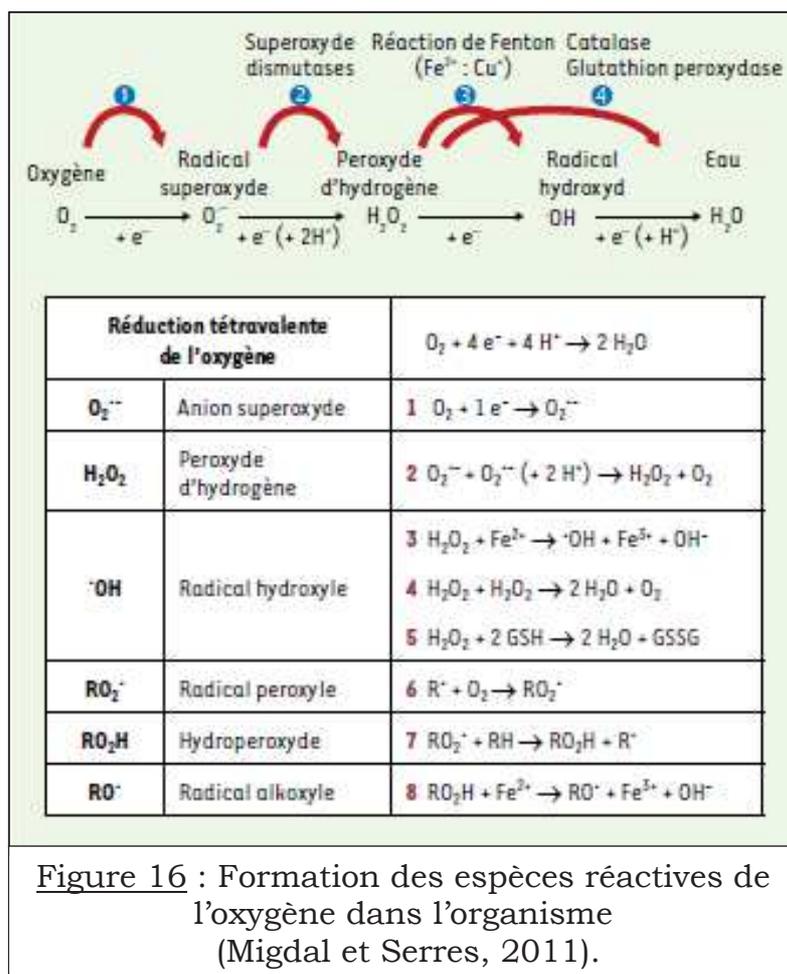
Il existe une autre source de production d'ERO *via* la NOX (NADPH Oxydase) qui est une enzyme catalysant la réaction suivante :



où le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate NAD(P)H sert de donneur d'électrons (Migdal et Serres, 2011).

#### 2.1.1.2-Rôles physiologiques des ERO

Dans les conditions normales, les ERO sont générées en faible quantité et jouent un rôle important dans le fonctionnement de l'organisme. Au cours de l'inflammation, les macrophages et les neutrophiles activés *via* la NOX, produisent des ERO qui leur permettent de défendre l'organisme contre les agents pathogènes : c'est «le burst oxydatif» (Dröge, 2002). Dans les cellules non phagocytaires, les ERO produits interviennent dans la régulation de voies de signalisations intracellulaires (Migdal et Serres, 2011). Les ERO jouent également le rôle de seconds messagers, notamment dans les phénomènes



d'apoptose en induisant une oxydation de l'ADN et dans l'activation des facteurs de transcription. Au cours de la fécondation, les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (Haleng *et al.*, 2007).

## 2.1.2-Les espèces réactives de l'azote

### 2.1.2.1-Origines des espèces réactives de l'azote

Le monoxyde d'azote radicalaire (NO<sup>•</sup>) est produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygène (Moncada *et al.*, 1991). Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes, les NO synthases (NOS). Il existe trois types de NOS : la NOS neuronale, la NOS endothéliale et la NOS inductible présente dans de nombreux tissus et organes. Les deux premières sont

exprimées constitutionnellement dans les cellules (Bredt, 1999) et leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium. Le NO• peut être converti en ion nitrosium (NO<sup>+</sup>), en anion nitroxyl (NO<sup>-</sup>) ou en peroxy-nitrite (ONOO<sup>-</sup>).

#### *2.1.2.2-Rôles physiologiques des ERN*

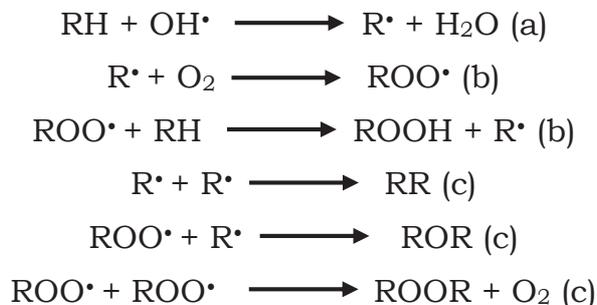
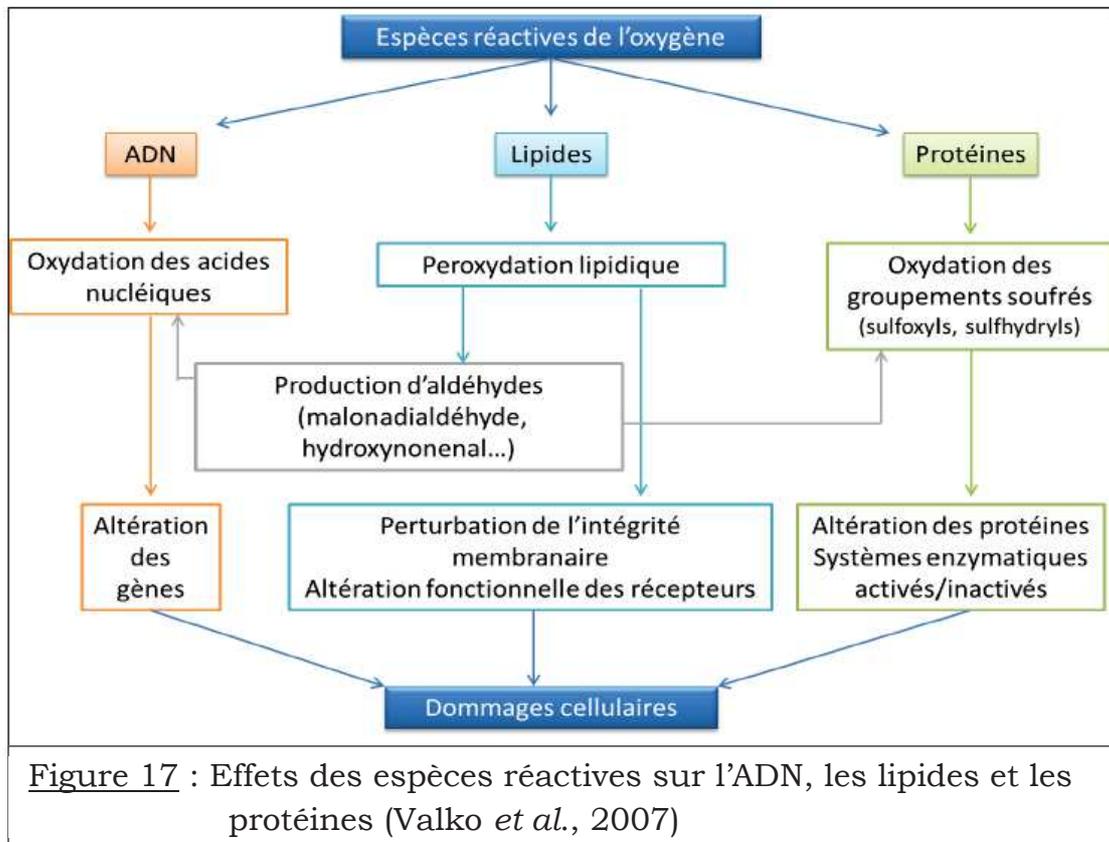
Le NO• est un agent vasodilatateur qui intervient dans la relaxation des muscles lisses. Au niveau cardiaque, il peut modifier la contraction cardiaque en modulant les flux calciques. Le NO• intervient également dans les phénomènes de neurotransmission et les réactions inflammatoires en tant qu'agent cytotoxique. C'est aussi un agent anti-apoptotique qui stimule la production de protéines anti-apoptotiques dont Bcl-2 (Hare, 2004).

#### **2.1.3-Les cibles biologiques des espèces réactives**

Si à faible quantité les ER jouent un rôle physiologique à divers niveaux du fonctionnement de l'organisme, formées en grande quantité elles deviennent pathologiques. Du fait de leur nature instable, elles sont très réactives vis-à-vis de substrats biologiques tels que les protéines, les acides nucléiques, les lipides et lipoprotéines, et sont capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (*figure 17*).

##### *2.1.3.1-Les lipides et lipoprotéines*

Les AGPI sont caractérisés par un enchaînement malonique et sont très abondants dans l'organisme. La présence d'un groupement méthylène entre deux doubles liaisons les rend particulièrement sensibles à l'oxydation. Les AGPI des membranes cellulaires sont donc la cible privilégiée des ER. La peroxydation lipidique ou oxydation des AGPI est une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule en trois étapes : initialisation (a), propagation (b) et réaction de terminaison (c) (Halliwell et Gutteridge, 1999).



Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des AGPI : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H<sup>+</sup> à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (Atkin *et al.*, 2005). Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Parmi les produits finaux formés, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (4-HNE) ont un potentiel mutagène et cancérigène (Valko *et al.*, 2006; Haleng *et al.*, 2007). La peroxydation lipidique peut être évaluée par

diverses techniques de dosage : substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) (Lefevre *et al.*, 1998) ou plus récemment, les isoprostanes. Ainsi, la 8-epi-prostaglandine PGF 2 $\alpha$ , appartenant à la famille des isoprostanes est un produit terminal issu de la peroxydation de l'acide arachidonique. L'isoprostane-F2 $\alpha$  et le 4-HNE peuvent être utilisés comme marqueurs dans le suivi de pathologies (Signorini *et al.*, 2013) ou suivi le suivi de traitements (Hockenberry *et al.*, 2014).

Les AGPI sont aussi les constituants essentiels des LDL (Lipoprotéine de faible densité). L'oxydation des AGPI des LDL circulantes par les ER aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Nakajima *et al.*, 2006). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (Saad *et al.*, 2006).

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. L'oxydation des LDL se traduit par l'expression du titre d'anticorps contre les LDL oxydées. Plusieurs études ont montré que l'augmentation de la concentration en anticorps est étroitement associée avec la progression de l'athérosclérose carotidienne (Salonen *et al.*, 1992; Chiesa *et al.*, 1998; Lehtimäki *et al.*, 1999).

#### 2.1.3.2-Les protéines

L'oxydation des protéines implique des acides aminés spécifiques entraînant la dégradation de la protéine. Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ER. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts dityrosines intra- et inter-chaînes. La plupart

des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées peuvent former des agrégats qui s'accumulent à l'intérieur des cellules ainsi que dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007). Il existe différents types d'oxydation :

-Attaque directe : c'est la fragmentation des protéines et formation de produits carbonylés. Ainsi la fragmentation de l'arginine aboutit à la formation de semi-aldéhyde glutamique. Ces produits de fragmentation sont impliqués dans des maladies liées à des dysfonctionnements de neurotransmetteurs comme l'épilepsie (Wong *et al.*, 2003; Pearl *et al.*, 2007).

-Lipo-oxydation : c'est la réaction d'une protéine avec un aldéhyde produit au cours de la réaction de peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE). L'accumulation de lipoprotéines oxydées au niveau de la paroi vasculaire et un dysfonctionnement endothélial favorisent l'athérosclérose (Nakajima *et al.*, 2006).

-Glyco-oxydation : il s'agit de réactions en plusieurs étapes dans lesquelles le glucose réagit avec les protéines selon un processus non enzymatique (réaction de Maillard), puis subit diverses oxydations. Les produits de ces réactions sont appelés produits de glycation avancée (AGE) dont la pentosidine et la N $\epsilon$ -carboxyméthyllysine (Hayase *et al.*, 1996). Ainsi, dans le cas du diabète de type 2, l'hyperglycémie conduit à renforcer le taux de ce type de réactions, induisant d'une part divers pontages entre protéines (par l'intermédiaire de la pentosidine) et d'autre part la production d'ER *via* la formation de produits de glycation avancée. Les ER en excès vont alors altérer la paroi des vaisseaux et induire des complications vasculaires telles que les micros et macros angiopathies (Gillery, 2001).

Les produits d'oxydation des protéines peuvent être déterminés par plusieurs méthodes spécifiques et en particulier par le dosage des protéines carbonylées et/ou les dityrosines. Une méthode plus globale de détermination a été proposée : celle basée sur les AOPP (Advanced Oxidation protein products) qui sont structurellement similaires aux AGE (Witko-Sarsat *et al.*, 1996).

### 2.1.3.3-L'acide désoxyribonucléique

L'acide désoxyribonucléique (ADN) peut dans son ensemble réagir avec les ER, surtout avec le radical hydroxyle. Cette réaction peut endommager les bases puriques et pyrimidiques mais aussi le désoxyribose (Halliwell et Gutteridge, 1990). L'ADN mitochondrial est plus sensible aux ER que l'ADN nucléaire. Ceci est dû au faible niveau des systèmes enzymatiques de réparation qui opèrent au niveau des mitochondries, comparativement au génome nucléaire (Stevnsner *et al.*, 2002). Les réactions d'oxydation de l'ADN peuvent être classées en deux catégories :

-Oxydation directe : elle est le plus souvent due au radical hydroxyle et au peroxy-nitrite qui entraînent des lésions des bases purines et pyrimidines (Cadet *et al.*, 1999). Le plus abondant des produits d'oxydation de l'ADN est la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) issue de l'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle (Helbock *et al.*, 1999).

-Lipo-oxydation : les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE) peuvent réagir avec le groupement amine des bases de l'ADN et constituer une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999; Nair *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003).

Les modifications de l'ADN dues aux ER peuvent être corrigées dans l'organisme par des enzymes de réparation, non spécifiques des dommages oxydatifs, qui reconnaissent les anomalies de l'ADN et les éliminent par excision et resynthèse (Poulsen, 2005). Lorsque ces enzymes de réparation sont débordées, les dommages oxydatifs de l'ADN seront à l'origine de graves altérations du matériel génétique pouvant générer des cancers ou entraîner une mort cellulaire (Nair *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003; Valko *et al.*, 2006).

## 2.2-LES ANTIOXYDANTS

Les espèces réactives sont produites de façon continue au sein de l'organisme. Pour se protéger de leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Gutteridge, 1990). Il a pour rôle d'empêcher la

formation d'espèces réactives en excès, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une provenant de l'alimentation (fruits et légumes) et l'autre étant endogène.

### **2.2.1-Les antioxydants endogènes**

Les antioxydants endogènes sont soit enzymatiques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) soit non enzymatiques (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine, oligoéléments, etc.).

#### *2.2.1.1-Les antioxydants endogènes enzymatiques*

Les principales enzymes antioxydantes sont : la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT). A côté de ces dernières, il existe d'autres enzymes (hème oxygénase 1, NAD(P)H quinone oxydoréductase 1, thioredoxines, etc.) ayant également des propriétés antioxydantes.

##### 2.2.1.1.1-Les superoxydes dismutases

Les SOD sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



Elles constituent une première ligne de défense très efficace en empêchant l'accumulation cellulaire d'anion superoxyde. Il existe trois isoformes de SOD qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique. Il s'agit de : i) la Cu/Zn-SOD1, associée aux ions cuivre et zinc, localisée dans le cytosol et la membrane mitochondriale; ii) la Mn-SOD2, associée au manganèse, localisée dans la mitochondrie et iii) la Cu/Zn-SOD3, de localisation extracellulaire (Sentman *et al.*, 2006). La distribution de ces différentes isoformes varie selon le tissu. Des mutations du gène codant pour la Cu/Zn-SOD1 sont à l'origine d'une neurotoxicité impliquée dans la sclérose latérale amyotrophique (Redler et Dokholyan, 2012). Différentes études ont montré qu'une surexpression de la Mn-SOD2 entraînait un ralentissement de la croissance tumorale (Behrend *et al.*, 2003).

La Cu/Zn-SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng *et al.*, 2007). La Cu/Zn-SOD3 possède une forte affinité pour certains glycosaminoglycanes tels que l'héparine (Mates *et al.* 1999). Sa diminution est observée chez des patients atteints de psoriasis suggérant ainsi son importance dans la réaction inflammatoire au niveau cutané (Kwon *et al.*, 2012). Ces métalloprotéines nécessitent pour être efficace la collaboration de la catalase ou de la glutathion peroxydase qui prennent en charge le peroxyde d'hydrogène formé. En cas d'augmentation de la SOD, sans augmentation de la catalase et de la GPx, le peroxyde d'hydrogène formé en excès pourrait être délétère.

#### 2.2.1.1.2-La catalase

La catalase (CAT) catalyse la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> empêchant ainsi la formation de radical hydroxyle.



Elle permet également d'oxyder différents substrats, tels que les phénols et les alcools par une réaction utilisant le peroxyde d'hydrogène :



C'est une enzyme héminique particulièrement abondante dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle possède un turnover important. Une molécule de CAT peut convertir en une minute environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (Valko *et al.*, 2006). Son affinité pour l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est élevée lorsque les taux de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont élevés (Powers *et al.*, 1999). Son activité catalytique est réduite dans le cerveau et le myocarde (Scholz *et al.*, 1997). Le rôle de la CAT dans l'élimination de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut être complété par l'action des GPx.

#### 2.2.1.1.3-Les glutathions peroxydases

La glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine possédant 5 isoformes : i) la GPx1, la plus fréquente, est présente dans le cytoplasme et la

mitochondrie; ii) la GPx2 dite gastro-intestinale; iii) la GPx3 présente au niveau plasmatique; iv) la GPx4 située à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et v) la GPx5 localisée dans l'épididyme (Mates *et al.*, 1999; Comhair et Erzurum, 2002). La GPx réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action des ER sur les AGPI. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Alors que la GPx catalyse la dismutation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et en oxygène moléculaire, le GSH est oxydé en GSSG (Mates *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2008).

#### 2.2.1.1.4-L'hème oxygénase-1 (HO-1)

Il existe trois isoformes d'hème oxygénase : l'HO-1, est l'isoforme induite en réponse à divers stress; l'HO-2 est l'isoforme constitutive exprimée dans les conditions normales d'homéostasie et l'HO-3, sans activité catalytique propre, est retrouvée uniquement chez le rat (Hayashi *et al.*, 2004). L'HO-1 est majoritairement localisée dans les microsomes et dégrade l'hème en fer ferreux, en monoxyde de carbone et en biliverdine. Cette dernière est transformée, grâce à la biliverdine réductase, en bilirubine qui est un puissant antioxydant. Le fer ferreux quant à lui entraîne la stimulation de la ferritine, protéine de stockage du fer (Grochot-Przeczek *et al.*, 2012). L'HO-1 possède une activité anti-inflammatoire, antioxydante et antiapoptotique (Lyoumi *et al.*, 2007). En cas de stress, de nombreux agents, comme les cytokines, les métaux lourds ou le peroxyde d'hydrogène peuvent induire l'HO-1. L'HO-1 constitue donc un mécanisme de défense contre les dégâts tissulaires causés par le stress oxydant (Wang et Chau, 2010; Grochot-Przeczek *et al.*, 2012).

#### 2.2.1.1.5-La NAD(P)H quinone oxydoréductase 1 (NQO1)

La NAD(P)H quinone oxydoréductase 1 (NQO1) est une flavoenzyme principalement localisée dans le cytosol (Siegel *et al.*, 2012). Elle réalise une réduction à deux électrons des quinones en utilisant le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) ou le nicotinamide adénine

dinucléotide réduit (NADH) comme cofacteur (Lind *et al.*, 1982). Elle empêche la formation de produits pouvant entraîner la formation d'ER et assure le maintien de la vitamine E sous forme réduite et donc active (Siegel *et al.*, 1997). Chez l'homme on observe une surexpression de NQO1 dans les tumeurs du côlon, du sein, du pancréas et du poumon (Siegel et Ross, 2000).

#### 2.2.1.2- Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique, bilirubine) (Kohen et Nyska, 2002). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de fenton (Halliwell et Gutteridge, 1990).

##### 2.2.1.2.1-Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Le GSH participe à l'élimination de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des peroxydes lipidiques en servant de co-substrat au GPx. La régénération du GSH est catalysée par la glutathion réductase avec comme coenzyme la NADPH. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de •OH et de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (Halliwell, 1996). Dans les conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Un rapport GSH/GSSG élevé est essentiel pour assurer une protection contre le stress oxydant (Valko *et al.*, 2006). Le GSH joue un rôle dans la chélation des métaux de transition et dans la régénération finale des vitamines E et C à partir de leur forme radicalaire. La plupart des protéines, dont l'albumine, contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Haleng *et al.*, 2007).

#### 2.2.1.2.2-L'acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, l'acide urique est soit éliminé dans les urines, soit excrété par la bile et l'intestin où il sera dégradé en allantoiné par l'uricase des bactéries coliques (Pritchard et Miller, 1993). L'acide urique est un puissant piègeur des radicaux peroxydes et hydroxydes (Haleng *et al.*, 2007) et neutralise aussi l'anion superoxyde (Ames *et al.*, 1981; Simic et Jovanovic, 1989). Il représente 60 % de la capacité antioxydant plasmatique. Ses propriétés antioxydantes peuvent être appréciées indirectement par la présence à des taux élevés lors d'un stress oxydant de l'allantoiné, un produit de sa réaction avec les ER (Letonturier, 2002).

#### 2.2.1.2.3-Le Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10, appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il appartient à la chaîne respiratoire mitochondriale et permet le transport d'électrons des complexes I et II vers le complexe III. Le Coenzyme Q10 est un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique en synergie avec la vitamine E (Suzuki *et al.*, 2011). Il est également impliqué dans la régénération de la vitamine E, ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ER (Podda *et al.*, 1996). Son effet antioxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné qu'il est un antioxydant liposoluble endogène (Bentinger *et al.*, 2010).

#### 2.2.1.2.4-La bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stoechiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et

les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Haleng *et al.*, 2007; Grochot-Przeczek *et al.*, 2012)

### **2.2.2-Les antioxydants exogènes**

Les antioxydants exogènes nous sont apportés par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, flavonoïdes, et en oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Defraigne et Pincemail, 2008).

#### *2.2.2.1-Les vitamines*

##### *2.2.2.1.1-La vitamine A*

Ce terme regroupe les rétinoïdes et les provitamines A aussi appelés caroténoïdes. Ces derniers sont majoritairement connus comme étant des précurseurs de la vitamine A tels que le  $\beta$ -carotène. Les caroténoïdes sont de puissants agents antiradicalaires. Ils ont également un rôle de protection vis-à-vis des réactions de photosensibilisation. En fonction de la concentration en caroténoïdes, leurs effets sont différents : à faible concentration, ils ont une action antioxydante alors qu'à plus forte concentration, ils se comportent comme des agents pro-oxydants (Valko *et al.*, 2006; Hozawa *et al.*, 2007).

##### *2.2.2.1.2-La vitamine C*

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C (acide ascorbique) dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des ERO ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle inhibe également la peroxydation lipidique. Au cours de cette inhibition, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Singh *et al.*, 2005). La vitamine C peut avoir un effet pro-oxydant en se liant avec des ions métalliques (Gulcin, 2012) tels que  $\text{Fe}^{3+}$  pour le réduire en  $\text{Fe}^{2+}$  qui pourra ensuite catalyser différentes réactions dont celle de Fenton, générant ainsi de nouvelles ER. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication

dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer.

#### 2.2.2.1.3-La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols et les tocotriénols. D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' $\alpha$ - et le  $\gamma$ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en AGPI, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ( $\text{ROO}\cdot$ ) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' $\alpha$ -tocophérol est le plus abondant, il semble que le  $\gamma$ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau (Singh *et al.*, 2005; Haleng *et al.*, 2007)

#### 2.2.2.2-Les oligoéléments

Les oligoéléments ne sont pas des antioxydants en tant que tels, car ils ne peuvent pas piéger les ER, mais ils jouent un rôle primordial comme cofacteurs des enzymes antioxydantes.

##### 2.2.2.2.1-Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur de nombreuses enzymes (la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine  $\beta$ -hydroxylase) étant donné sa facilité à passer de sa forme réduite ( $\text{Cu}^{2+}$ ) à sa forme oxydée ( $\text{Cu}^+$ ) (Laliberte et Labbe, 2008; Jomova et Valko, 2011). Il possède notamment des propriétés antioxydantes. Il va ainsi catalyser la transformation des ER *via* la réaction d'Haber-Weiss. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'ER (réactions de fenton) et peut, lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (Haleng *et al.*, 2007; Laliberte et Labbe, 2008).

##### 2.2.2.2.2-Le sélénium

Le sélénium joue un rôle primordial dans la défense antioxydante comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera

essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx (Haleng *et al.*, 2007).

#### 2.2.2.2.3-Le zinc

Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège les groupements thiols des protéines contre l'oxydation due au fer et peut inhiber les réactions de formation d'ER induites par le fer ou le cuivre (Parma *et al.*, 2004). Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) est un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Une carence en zinc peut induire un stress oxydant pouvant aboutir à des pathologies chroniques (Jomova et Valko, 2011). Le zinc joue également un rôle de cofacteur pour de nombreuses enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique, etc.

#### 2.2.2.3-Les polyphénols

Le groupe des polyphénols compte plus de 8000 composés à savoir : i) les flavonoïdes (flavonols, flavanols, anthocyanes, isoflavones, flavonones, etc.), ii) les acides phénoliques (acide caféique, acide gallique, acide ferulique, etc.), iii) les stilbènes (resvératrol) et iv) les lignanes (secoisolaricirésinol-diglucoside). Les polyphénols les mieux décrits sont les flavonoïdes. Ces derniers se différencient structurellement par le nombre de noyaux benzène ainsi que par les éléments qui lient leurs noyaux (Valko *et al.*, 2006; Yoshihara *et al.*, 2010). La propriété antioxydante des flavonoïdes est leur capacité à inactiver et stabiliser les ER (radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes) grâce à leur groupement hydroxyle (C3OH) (Ghedira, 2005). Les polyphénols sont apportés exclusivement par l'alimentation. Les polyphénols sont présents dans les fruits rouges, le vin, les agrumes, certaines huiles végétales, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons, le sésame, les algues brunes, etc. Leur biodisponibilité est faible et passe par un réseau complexe d'absorption, métabolisation et élimination (Németh *et al.*, 2003).

Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes prouvées. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des ER et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Robak et Gryglewski, 1988; Suzuki *et al.*, 2011). Effectivement, il a été démontré que les polyphénols inhibent ou préviennent la peroxydation lipidique et notamment la formation des LDL oxydés (Osakabe *et al.*, 2001; Schroeter *et al.*, 2002; Valko *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2009; Yoshihara *et al.*, 2010). Ils présentent également un effet protecteur vis-à-vis de certaines pathologies cardiovasculaires ou de cancers (Damianaki *et al.*, 2000; Ding *et al.*, 2013; Valko *et al.*, 2006; Yoshihara *et al.*, 2010).

## 2.3- LE STRESS OXYDANT ET LA SIGNALISATION CELLULAIRE

### 2.3.1- NF-E2-related factor 2 (Nrf2)

Le facteur de transcription Nrf2 joue un rôle primordial dans la protection de différents organes (foie, reins, estomac, cerveau) et de cellules (macrophages, érythrocytes) contre les ER en raison de son rôle prépondérant dans la régulation du système antioxydant.

#### 2.3.1.1- Structure de Nrf2

Nrf2 est composée de près de 600 acides aminés. Sa structure comprend 6 domaines fonctionnels (Neh). Neh1 est un domaine de type « leucin zipper » et permet la liaison avec l'ADN. Neh2 correspond à la région de l'extrémité N-terminale. Neh3 est situé dans la région C-terminale et participe à l'activation transcriptionnelle. Neh4 et Neh5 peuvent se lier ensemble ou séparément à un autre activateur de transcription, le cAMP Responsive Element Binding (cREB) protein (CBP), activant ainsi la transcription des gènes cibles. Neh6 et Neh2 sont deux régulateurs négatifs de Nrf2 (Motohashi et Yamamoto, 2004; Cardozo *et al.*, 2013).

#### 2.3.1.2- Activation de Nrf2

Dans les conditions normales, Nrf2 est inactif et présent dans le cytoplasme sous forme liée à Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) *via* Neh2. La présence en excès d'ER induit un clivage Keap1/Nrf2. Nrf2, séparé

de Keap1, se transloque sous sa forme active dans le noyau où il s'hétérodimérise avec une protéine Maf. Une fois activé, Nrf2 se fixe sur les sites des éléments de réponse aux antioxydants qui sont des séquences activatrices de la transcription de gènes intervenant dans le stress oxydant (Taguchi *et al.*, 2011; Cardozo *et al.*, 2013; Ma, 2013). Nrf2 a la capacité de se fixer sur les sites des éléments de réponse aux antioxydants localisés dans la région promotrice de nombreux gènes de détoxification : i) gènes antioxydants (GR, CAT, GPx, NQO1, HO-1), ii) gènes impliqués dans la dégradation protéique par le protéasome (Kwak *et al.*, 2003) ou iii) gènes impliqués dans la prolifération cellulaire (Malhotra *et al.*, 2010). La fixation de Nrf2 sur ces sites induit les différents systèmes de défense cellulaire (Lee *et al.*, 2005; Taguchi *et al.*, 2011).

#### 2.3.1.3- Rôle de Nrf2 dans la défense antioxydante

L'activation des défenses antioxydantes par Nrf2 met en jeu différentes voies pour réguler l'homéostasie des ER. Nrf2 induit la transcription des gènes favorisant : i) la neutralisation des anions superoxydes et peroxydes par activation de la GPx, la SOD et la peroxiredoxine, ii) l'induction de HO-1 et NQO1, iii) la synthèse du glutathion grâce à son action sur la sous-unité catalytique (GCLC) et la sous-unité modificatrice (GCLM) de la glutamate-cystéine ligase, et de NADPH, iv) l'augmentation de transporteurs tels que le transporteur cystine/glutamate v) la régénération des protéines et cofacteurs oxydés, vi) la chélation des métaux et vii) l'activation de l'expression de la thioredoxine (Venugopal et Jaiswal, 1996; Solis *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005; Neumann *et al.*, 2009; Taguchi *et al.*, 2011).

Nrf2 induit également la transcription des gènes intervenant dans le métabolisme des xénobiotiques comme l'UDP-Glucuronosyl-transférase 1A1 (UGT 1A1) chez l'homme (Yueh et Tukey, 2007). Il a récemment été démontré que Nrf2 régule aussi des processus mettant en jeu des espèces pro-oxydantes dont l'autophagie, l'inflammation et l'apoptose (*figure 18*) (Ma, 2013).

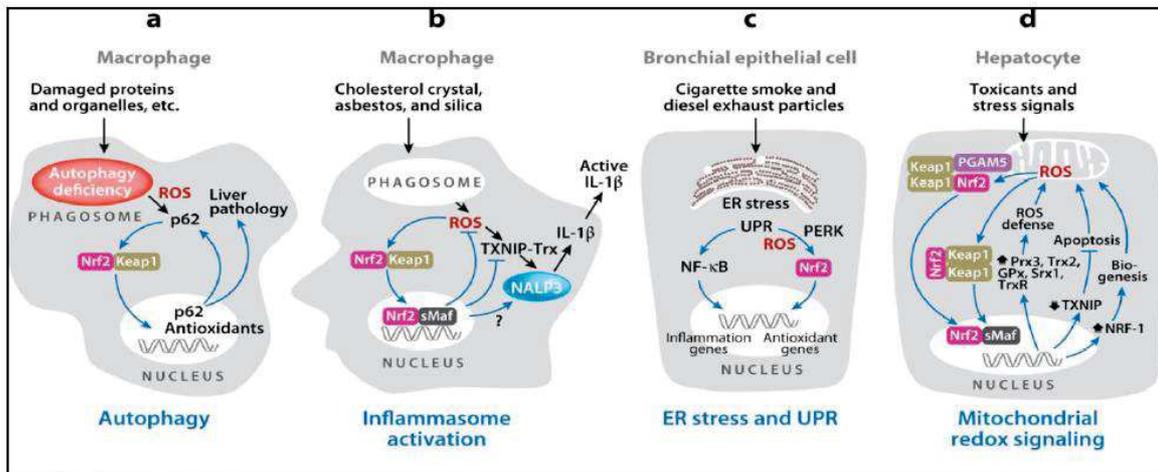


Figure 18 : Rôles de Nrf2 dans les phénomènes d'autophagie (a), d'inflammation (b), du stress du réticulum endoplasmique (c) et de signalisation mitochondriale (d) (Ma, 2013)

### 2.3.2- Autres facteurs de transcription

#### 2.3.2.1- Nuclear Factor-kappa B (NF-κB)

La famille NF-κB comprend, chez les vertébrés, cinq facteurs de transcription : NF-κB1, NFκB2, c-Rel, RelA et RelB. Cet ensemble de facteurs de transcription étant activé notamment par les ER, il est considéré comme un « sensor » du stress oxydant (Storz et Toker, 2003). NF-κB induit entre autres la transcription de gènes codant pour des enzymes antioxydantes telles que la SOD, NQO1, HO-1 et la synthèse d'agents pro-inflammatoires tels que l'interleukine 6 (IL-6) et le Tumor necrosis Factor α (TNF α) (Pahl, 1999).

#### 2.3.2.2- Activated Protein-1 (AP-1)

AP-1 est un facteur de transcription hétérodimérique qui comprend des protéines de la famille de Fos, Jun, Maf et ATF qui sont des activateurs de transcription. En fonction des combinaisons entre ces protéines, AP-1 va induire la transcription de divers gènes. Il est activé par des stimuli tels que le peroxyde d'hydrogène (Valko *et al.*, 2006). L'induction du facteur AP-1 met en jeu les voies de JNK, p38 et des MAP kinases (Pinkus *et al.*, 1996). AP-1

intervient surtout dans des processus de cancérogénèse (Hsu *et al.*, 2000), de prolifération et d'apoptose comme inducteur ou inhibiteur (Valko *et al.*, 2006).

## 2.4- LE STRESS OXYDANT ET LA SANTE

Le processus de fonctionnement de l'organisme génère régulièrement des ER qui, dans les conditions normales lui sont utiles. Mais quand les ER sont produites en grande quantité, de sorte que le système antioxydant de l'organisme soit dépassé, il s'en suit un stress oxydant. De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant au cours de leur développement, ont été recensées : i) la peroxydation des lipides sera à l'origine des MCV liées à l'athérosclérose, ii) l'oxydation de l'ADN pourra éventuellement générer des cancers, iii) leur implication dans les processus inflammatoires se manifeste dans diverses pathologies: vasculaires (Diabète, Athérosclérose, Cardiomyopathies), neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), rhumatoïdes (Arthrite, Sclérose amyotrophique), broncho-pulmonaires (Asthme, Syndrome respiratoire, Fibroses pulmonaires, Emphysème), gastro-intestinales (Colites, Maladie de Crohn) (Dröge, 2002; Valko *et al.*, 2007; Haleng *et al.*, 2007).

Dans ce chapitre nous décrivons le lien entre le stress oxydant et le diabète, l'athérosclérose et le cancer.

### 2.4.1-Stress oxydant et diabète

Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète (Defraigne, 2005; Vincent et Taylor, 2006).

#### 2.4.1.1-Stress oxydant et diabète de type 2

Au cours du diabète de type 2, l'hyperactivation de la voie glycolytique et de la mitochondrie conduisent à un stress oxydant. Ce stress inhibe à la fois la sécrétion d'insuline (Krippeit-Drews *et al.*, 1994) et la transduction de son signal, pouvant conduire à l'insulino-résistance (Delattre *et al.*, 1999). En effet, il a été mis en évidence que l'eau oxygénée, produite massivement dans la mitochondrie sous l'effet de l'hyperglycémie chronique, inhibe l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline et son substrat IRS-1

(substrat 1 du récepteur de l'insuline). Cette inhibition se répercute sur i) l'activation de la phosphatidylinositol 3-kinase et les MAP kinases (mitogen-activated protein kinases), ii) la translocation du transporteur du glucose (GLUT4), iii) l'activation de la protéine kinase B et iv) les effets du TNF $\alpha$ , favorisant un syndrome inflammatoire (Hansen *et al.*, 1999).

#### *2.4.1.2-Stress oxydant et diabète de type 1*

Dans le diabète de type 1, certains travaux ont pu montrer que le stress oxydant conduit à la destruction insulaire du pancréas par nécrose et/ou par apoptose de la cellule bêta (Bonfont-Rousselot, 2002). Les effets délétères à la fois de l'hyperglycémie chronique et de la lipotoxicité trouvent leur impact au niveau mitochondrial (Brownlee, 2001). En effet, l'élévation accrue des AGL favorise la synthèse de céramides qui vont activer la NO synthase. L'excès de NO formé accentue la formation du radical du monoxyde d'azote, ce qui va inhiber la cytochrome C oxydase, entraînant l'ouverture du Pore de Transition de Perméabilité (PTP) de la membrane interne mitochondriale. Cette brèche du PTP conduit à la fuite de protons et entraîne à son tour un gonflement mitochondrial, la sortie du cytochrome C dans le cytosol et l'activation des caspases, phénomène relié à la mort de la cellule bêta (Detaillé *et al.*, 2002). D'autre part, les ER agissent comme second messenger des interleukines, ce qui explique la destruction de la cellule bêta dans le diabète type 1 autoimmunitaire (Cunningham et Green, 1994).

#### *2.4.1.3-Stress oxydant et complications du diabète*

Différentes études ont pu montrer que le stress oxydant joue un rôle important dans la genèse des complications vasculaires du diabète (Giugliano et Ceriello, 1996), essentiellement les microangiopathies. Les mécanismes mis en jeu font intervenir les produits de glycation avancée des protéines (AGE). En effet, en présence d'hyperglycémie chronique, les protéines ayant une demi-vie supérieure à dix semaines subissent des modifications irréversibles formant des AGE, générant un stress oxydant (Gillery, 2001; Selvaraj *et al.*, 2006). Ces derniers se lient à des récepteurs spécifiques (RAGE), mais aussi à des protéines de la matrice extracellulaire (collagène, laminine,

protéoglycanes), augmentant ainsi la perméabilité de la barrière glomérulaire. Ces phénomènes expliquent partiellement la protéinurie observée dans la néphropathie du diabétique (Hudson *et al.*, 2005). D'autre part, l'accumulation de sorbitol et de fructose dans la rétine, suite à l'hyperglycémie chronique, provoque un stress oxydant expliquant partiellement la rétinopathie diabétique (Haleng *et al.*, 2007).

#### **2.4.2-Stress oxydant et athérosclérose**

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique multifactorielle qui se caractérise par un épaissement de la paroi des artères au niveau de l'intima. L'oxydation des LDL joue un rôle clef dans l'initiation et le développement de la plaque athéromateuse. Les LDL retenues dans l'intima, dans un microenvironnement privé d'antioxydants, subissent l'attaque des ER produites par les différentes cellules de la paroi artérielle et s'oxydent. Les LDL oxydées vont ensuite stimuler au niveau des cellules endothéliales la production de molécules entraînant le recrutement de monocytes qui une fois dans l'intima vont se différencier en macrophages. Ces derniers, possédant des récepteurs qui reconnaissent les LDL oxydées, vont les internaliser et devenir des cellules spumeuses qui aboutiront à la formation de stries lipidiques, première étape du développement de la plaque d'athérosclérose (Heinecke, 1997; Chisolm et Steinberg, 2000; Beaudeux *et al.*, 2003).

La dysfonction de l'endothélium vasculaire est un facteur important dans le développement de l'athérosclérose. Il a été montré que l'anion superoxyde inactive l'oxyde nitrique qui est le facteur relaxant libéré par l'endothélium (Rubanyi et Vanhoutte, 1986). D'autre part, dans la cellule endothéliale humaine, l'angiotensine II peut induire un stress oxydatif pro-athérosclérotique par l'expression de la NADPH oxydase (Rueckschloss *et al.*, 2002). L'angiotensine II stimule également la production intracellulaire d'ERO entraînant ainsi l'hypertrophie des muscles lisses vasculaires (Ushio-Fukai *et al.*, 1996). L'induction de l'athérosclérose sévère et sa réduction dépendent du niveau de production d'anion superoxyde et de l'activité de la NADPH oxydase (Hathaway *et al.*, 2002).

### 2.4.3-Stress oxydant et cancer

L'implication des ER dans la carcinogenèse peut s'expliquer par deux mécanismes principaux : l'induction des mutations géniques ainsi que des effets qui peuvent concerner la transduction du signal ou l'action de certains facteurs de transcription (Floyd *et al.*, 1986). Le mécanisme utilisé sera fonction de la nature de l'ER impliquée et de l'intensité du stress oxydant (Mates *et al.*, 1999). Quel que soit le mécanisme impliqué, l'oxydation de l'ADN est au centre de la carcinogenèse. Il est maintenant connu que les parties télomériques sont très sensibles à l'action mutagène d'ER, de même que certains gènes suppresseurs de tumeurs (p53) ou bien ceux impliqués dans le cycle cellulaire (Noda et Wakasugi, 2001). De plus, les produits d'oxydation de lipides (MDA, 4-HNE) ont aussi le potentiel d'induire des mutations géniques (*figure 17*).

De nombreuses études sur la relation entre le stress oxydant et la carcinogenèse ont été réalisées. L'administration de fer à des rats ayant subi une œsophagoduodénostomie a entraîné l'oxydation de l'ADN et des lipides ainsi que le développement d'un cancer œsophagien (Chen *et al.*, 2000). La relation entre *Helicobacter pylori* et le cancer gastrique serait due au fait que cette bactérie produit l'anion superoxyde et du peroxyde d'azote dans le suc gastrique (Pignatelli *et al.*, 1998). Les femmes présentant une mutation du gène codant pour Mn-SOD auraient un risque plus élevé de développer un cancer du sein (Ambrosone *et al.*, 1999). Behrend *et al.*, (2003) ont montré qu'une surexpression de la Mn-SOD entraînait un ralentissement de la croissance tumorale.

Un niveau important de lésions typiques causées par les ER et un taux faible d'enzymes antioxydantes ont été observés dans les lymphocytes provenant d'enfants ayant une leucémie aigue lymphoblastique (Sentürker *et al.*, 1997). De même, dans les cellules provenant de patients ayant une leucémie lymphoïde chronique, les niveaux de MDA et de 8-OHdG sont élevés alors que les activités de la SOD et de la catalase sont abaissées (Oltra *et al.*, 2001). Ces auteurs ont également montré que les thrombocytes tumoraux sont plus sensibles au stress oxydant que les thrombocytes normaux. Boyd et

McGuire (1991) ont mis en évidence une corrélation entre la peroxydation lipidique et le risque de cancer du sein chez les femmes en pré-ménopause.

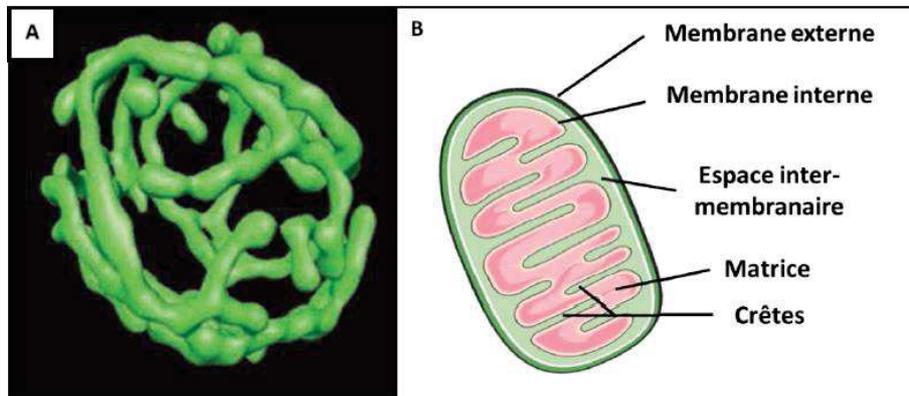
### **III- LA MITOCHONDRIE**

La mitochondrie est un organite spécialisé dans la transformation de l'énergie des cellules eucaryotes. Elle intervient dans la phase finale de l'oxydation des substrats énergétiques (lipides, glucides et protides). Elle est riche en composants biochimiques dont l'objectif majeur est la production d'énergie. Le nombre de mitochondries, compris entre 500 et 2000 par cellule, varie en fonction du type cellulaire. La taille et la forme des mitochondries sont elles aussi étroitement liées à l'activité cellulaire. Les mitochondries ne sont pas isolées ni figées dans la cellule, elles forment un réseau mitochondrial dynamique qui est finement régulé par des phénomènes de fusion et de fission (Jakobs, 2006). La mitochondrie comporte plusieurs exemplaires de son propre ADN (ADN mitochondrial, ADNmt) distinct de l'ADN nucléaire (Wiesner *et al.*, 1992). Cependant, l'ADNmt code seulement pour une fraction de 13 protéines, fondamentales pour la fonction mitochondriale et plus particulièrement pour les complexes de la chaîne respiratoire (Taylor et Turnbull, 2005). En plus d'assurer l'approvisionnement cellulaire en énergie, les mitochondries ont d'autres rôles vitaux pour le bon fonctionnement de la cellule. Elles participent à l'homéostasie calcique, à la régulation du pH intracellulaire, à la synthèse d'hormones stéroïdes et des hèmes, ainsi qu'à la régulation de la thermogenèse. De plus, elles constituent un des principaux sites de production des radicaux libres qui jouent un rôle clé dans plusieurs voies de signalisation. Elle est aussi impliquée dans les mécanismes de l'apoptose.

#### **3.1-STRUCTURE DE LA MITOCHONDRIE**

La mitochondrie est un organite subcellulaire formant un réseau tubulaire ramifié à l'intérieur de la cellule (Hoffmann et Avers, 1973) (*figure 19A*). Ce réseau, dynamique, adapte son volume et ses ramifications en fonction des demandes énergétiques de la cellule (Egner *et al.*, 2002). Contrairement aux autres organites subcellulaires, la mitochondrie possède

deux membranes : une membrane externe et une membrane interne, qui délimitent deux compartiments distincts : l'espace inter-membranaire et la matrice mitochondriale (*figure 19B*).



**Figure 19:** Organisation structurale de la mitochondrie

A) Le réseau mitochondrial cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* obtenu par microscopie confocale 4Pi-multiphotonique (Egner et al., 2002). B) Schéma de la structure interne mitochondriale.

### 3.1.1-Les membranes mitochondriales

#### 3.1.1.1-La membrane mitochondriale externe

La membrane mitochondriale externe est une bicouche lipidique composée d'environ 50 % de lipides et 50 % de protéines. Les principaux lipides sont le cholestérol, la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE) et le phosphatidylinositol (PI) (Newman et al., 1968). Les protéines se composent d'enzymes spécifiques, notamment celles impliquées dans le métabolisme lipidique telles que la carnitine palmitoyl-transferase 1 (CPT1) et l'acyl-CoA synthase, et des transporteurs de protéines TOM (translocase of the outer membrane). Ces protéines permettent les échanges entre le cytosol et l'espace inter-membranaire de la mitochondrie en formant des pores qui autorisent d'une part la translocation de protéines et qui, d'autre part, permettent les échanges de métabolites de petit poids moléculaire *via* des porines. La porine, également appelée *voltage dependent anion channel* (VDAC), est la principale voie par laquelle transitent les

métabolites régulant la respiration mitochondriale. Les trois isoformes présents chez les mammifères (VDAC1, VDAC2, VDAC3) présentent des différences de perméabilité (Anflous *et al.*, 1998).

#### *3.1.1.2-L'espace inter-membranaire*

L'espace inter-membranaire se situe entre les deux membranes (*figure 19B*). C'est un espace étroit d'environ 100 angströms qui contient des protéines qui jouent un rôle majeur dans l'énergétique mitochondriale et la mort cellulaire (Duchen, 2004). Sa composition est proche de celle du cytosol. Il contient de nombreuses protéines dont le cytochrome c qui participe au fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Fixée sur la membrane interne, la créatine kinase a un accès privilégié à l'adénosine diphosphate (ADP), générée dans la matrice mitochondriale et transportée dans l'espace inter-membranaire par l'adénine nucléotide translocase (ANT). La créatine kinase mitochondriale, également couplée à la membrane externe, pourrait être impliquée dans la régulation de l'importation de créatine dans l'espace inter-membranaire et dans l'exportation de la phosphocréatine dans le cytosol (Ventura-Clapier *et al.*, 2004). Dans l'espace inter-membranaire, les membranes externe et interne peuvent interagir par des sites d'accolement appelés sites de contact. Ces sites sont formés par remodelage lipidique (Ardail *et al.*, 1990) et par l'interaction de complexes protéiques situés sur les membranes interne et externe. Ces structures pourraient jouer un rôle sur la morphologie de la membrane interne (Harner *et al.*, 2011). Ces sites de contact sont aussi les lieux privilégiés du transport des protéines de poids moléculaires élevés destinées à la matrice mitochondriale et à la membrane interne.

#### *3.1.1.3-La membrane mitochondriale interne*

La membrane interne de la mitochondrie contient 80 % de protéines et 20 % de phospholipides dont la cardiolipine (CL). Les cardiolipines sont les constituants spécifiques des membranes mitochondriales. Elles sont majoritairement détectées dans la membrane interne (75 % de la concentration totale de cardiolipines) (Gebert *et al.*, 2009) et représentent 18

% des lipides totaux de la membrane (et 4 % de ceux de la membrane externe) (Newman *et al.*, 1968; Ardail *et al.*, 1990). Grâce aux CL la membrane interne est relativement plus imperméable que la plupart des autres membranes. De ce fait, la membrane interne représente une barrière entre la matrice et le cytosol. En effet, la membrane interne n'est perméable qu'à l'oxygène, l'eau, le gaz carbonique, l'oxyde nitrique et l'ammoniac mais possède de nombreux transporteurs lui conférant, ainsi, une perméabilité sélective. Les CL jouent un rôle important dans la stabilité des propriétés physiques de la membrane et des crêtes mitochondriales (Ohtsuka *et al.*, 1993). Elles sont, étroitement associées aux protéines mitochondriales et seraient impliquées dans le fonctionnement de ces protéines. Elles pourraient, notamment, avoir un rôle de chaperonnes et permettre la bonne conformation et la bonne orientation des protéines de la chaîne respiratoire (Schlame et Ren, 2009). Par conséquent, les CL peuvent avoir un impact direct sur le fonctionnement de la phosphorylation oxydative.

Une des particularités de la membrane interne est de posséder de nombreux replis formant les crêtes mitochondriales qui cloisonnent plus ou moins la matrice mitochondriale (*figure 19B*). Ces crêtes augmentent considérablement sa surface, qui est environ 3 à 5 fois plus importante que celle de la membrane externe. Des études tomographiques (Dimroth *et al.*, 2000; Hunte *et al.*, 2000) ont permis de mettre en évidence une différence entre la composition de ces crêtes et celle de la membrane interne. En effet, elles sont reliées à la membrane interne par des structures tubulaires appelées jonctions de crêtes d'environ 30 nm de diamètre (Frey et Mannella, 2000; Gilkerson *et al.*, 2003). C'est dans ces crêtes mitochondriales que sont insérés les complexes de la chaîne respiratoire et l'ATP synthase (Allen, 1995). Plus qu'une localisation préférentielle, les complexes de la chaîne respiratoire seraient, en fait, à l'origine de la création de ces structures particulières (Paumard *et al.*, 2002).

### **3.1.2-La matrice mitochondriale**

La matrice mitochondriale est le compartiment interne de la mitochondrie (*figure 19B*). C'est le siège de nombreuses voies métaboliques

telles que le cycle de Krebs et la  $\beta$ -oxydation des acides gras. La mitochondrie, de par son origine endo-symbiotique, possède son propre génome, l'ADN mitochondrial. Elle possède également de nombreuses enzymes, des mitoribosomes, des ARNs de transfert, etc.

### 3.2-FONCTIONNEMENT DE LA MITOCHONDRIE

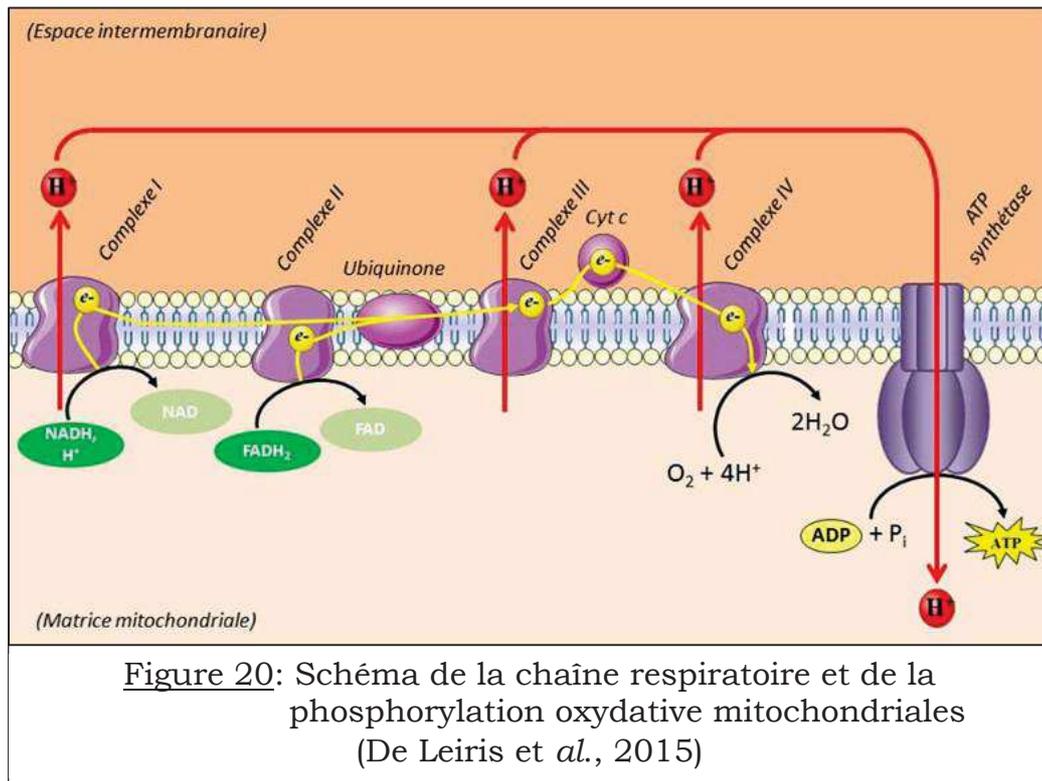
Dans une cellule eucaryote normale, environ 90 % de l'énergie nécessaire au fonctionnement cellulaire est fournie par la mitochondrie (Rolfe et Brown, 1997). La mitochondrie est de ce fait, considérée comme la « centrale énergétique » de la cellule. C'est au sein de la mitochondrie que se déroulent les dernières étapes du processus qui convertit l'énergie des molécules organiques issues de la digestion en énergie directement utilisable par la cellule, l'adénosine triphosphate (ATP). La production d'ATP au sein de la mitochondrie est assurée par le système de phosphorylation oxydative qui est composé de la chaîne respiratoire et de l'ATP synthase.

#### **3.2.1-La chaîne respiratoire mitochondriale et l'ATP synthase**

La chaîne respiratoire mitochondriale est une chaîne de transport d'électrons qui se situe dans la membrane interne de la mitochondrie et plus précisément dans les crêtes mitochondriales (Allen, 1995; Paumard *et al.*, 2002). Elle comprend quatre complexes fixes (I, II, III et IV) formés de protéines enchâssées dans la membrane interne (le complexe II étant sur la face matricielle) et 2 transporteurs mobiles d'électrons : le coenzyme Q (ou ubiquinone) et le cytochrome c (*figure 20*).

##### *3.2.1.1-Le complexe I : NADH ubiquinone oxydoréductase.*

La NADH ubiquinone oxydoréductase, également appelée complexe I, est la première enzyme de la respiration cellulaire (Hirst, 2005). Le complexe I est constitué de 45 sous-unités protéiques chez les mammifères, dont 38 sont codées par le génome nucléaire et 7 par le génome mitochondrial (Carroll *et al.*, 2006). C'est le plus gros des complexes enzymatiques respiratoires, environ 1 MDa (Lenaz *et al.*, 2006). Chez la plupart des organismes, il a une forme rappelant grossièrement une botte (Friedrich et Böttcher, 2004;



NAD = Nicotinamide adénine dinucléotide, FAD = Flavine adénine dinucléotide, Cyt c = Cytochrome c, ADP = Adénosine diphosphate, ATP = Adénosine triphosphate, Pi = Phosphate inorganique

Baranova *et al.*, 2007). Cette forme en botte englobe trois modules fonctionnels : i) le module déshydrogénase responsable de l'oxydation du NADH en NAD<sup>+</sup>, ii) le module hydrogénase, responsable du transfert d'électrons à l'ubiquinone et iii) le module de translocation des protons (Fernandez-Vizarrá *et al.*, 2009). Le complexe I réunit 7 couples redox : 1 flavine mononucléotide (FMN) et 6 centres Fe/S (Sazanov et Hinchliffe, 2006). Il catalyse l'oxydation du NADH au niveau matriciel et transfère 2 électrons au coenzyme Q et des protons vers l'espace inter-membranaire. Ce complexe serait capable de s'associer à des déshydrogénases, créant ainsi une micro-compartmentation (Fukushima *et al.*, 1989). Le complexe I est aussi un site majeur de production d'anion superoxyde, en raison de la réaction directe entre les électrons qui s'échappent de ce site et le dioxygène. Un déficit d'activité du complexe I est la cause la

plus fréquente de maladie mitochondriale. Par ailleurs, le complexe I étant une source majeure d'ERO, des mutations touchant ce complexe peuvent entraîner une augmentation de la production d'ERO et ainsi participer au développement de diverses maladies telles que la maladie d'Alzheimer (Block, 2008) ou bien contribuer à la progression tumorale en augmentant le potentiel métastatique des cellules tumorales (Ishikawa *et al.*, 2008).

#### *3.2.1.2-Le complexe II : Succinate ubiquinone oxydoréductase ou succinate déshydrogénase.*

La succinate déshydrogénase, également appelée complexe II, est le deuxième point d'entrée des électrons dans la chaîne respiratoire (Cecchini, 2003). Cette enzyme joue un rôle important dans la mitochondrie car elle présente la particularité d'appartenir à la fois à la chaîne respiratoire et au cycle de Krebs (Briere *et al.*, 2005). Le complexe II est constitué de quatre sous-unités protéiques (200 kDa) et de plusieurs cofacteurs : un FAD, 4 centres Fe/S, et un groupe héminique qui ne participe pas au transfert des électrons au coenzyme Q10 mais jouerait un rôle important en limitant la production des ERO (Cecchini, 2003; Horsefield *et al.*, 2004). Il catalyse l'oxydation du succinate en fumarate et la réduction du coenzyme Q10. Cette réaction libère moins d'énergie que l'oxydation du NADH, ce qui fait que le complexe II ne contribue pas à l'expulsion de protons vers l'espace inter-membranaire. Des défauts de fonctionnement de ce complexe ont été corrélés au développement : i) de pathologies neuro-dégénératives (Rotig *et al.*, 1997), ii) de la maladie de Huntington (Butterworth *et al.*, 1985), iii) de certaines encéphalopathies infantiles rares (Bourgeron *et al.*, 1995) ou iv) de certaines tumeurs (Gimenez-Roqueplo *et al.*, 2001; Baysal, 2006).

#### *3.2.1.3-Le complexe III : Ubiquinol-cytochrome c réductase*

L'ubiquinol-cytochrome c réductase, est également appelée complexe III, ou complexe cytochrome bc1 (Berry *et al.*, 2000; Crofts, 2004). Chez les mammifères, le complexe III est un dimère de deux complexes formés chacun de 11 sous-unités protéiques (250 kDa), d'un centre Fe/S et de trois cytochromes : un cytochrome c1 et deux cytochromes b (Berry *et al.*, 2000;

Crofts, 2004). La majorité de ces sous-unités est codée par le génome nucléaire, seule la sous-unité comprenant les cytochromes b est codée par le génome mitochondrial (Borisov, 2002). Le complexe III transfère 2 électrons de l'ubiquinol aux cytochromes c entraînant ainsi la ré-oxydation de l'ubiquinol en ubiquinone. Cette étape est associée au transfert de 4 protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire grâce au cycle Q décrit par Mitchell (1975). Ainsi, des électrons dérivant de l'oxydation de l'ubiquinol sont recyclés par le site ubiquinol réductase de cette enzyme ce qui permet le pompage des protons. Ce complexe est également un site de production d'ERO. Des défauts partiels du complexe III ont été identifiés chez des patients atteints de déficiences hépatiques néonatales et du syndrome de Leigh (Leshinsky-Silver *et al.*, 2003).

#### 3.2.1.4-Le complexe IV : Cytochrome c oxydase (COX)

La cytochrome c oxydase, également appelée complexe IV, est la protéine terminant la chaîne respiratoire mitochondriale (Calhoun *et al.*, 1994). Chez les mammifères, le complexe IV est composé de treize sous-unités protéiques (200 KDa) différentes, deux groupes hémiques et plusieurs cofacteurs renfermant des ions métalliques (cuivre, magnésium et zinc). Les trois sous-unités les plus grosses sont codées par le génome mitochondrial et les dix sous-unités restantes par le génome nucléaire (Calhoun *et al.*, 1994; Tsukihara *et al.*, 1996; Borisov, 2002). Cette enzyme catalyse le transfert d'électrons à une molécule d'oxygène tout en pompant des protons à travers la membrane mitochondriale interne (Yoshikawa *et al.*, 2006). Deux molécules d'eau sont formées par molécule d'oxygène réduite, tandis que quatre protons sont expulsés vers l'espace inter-membranaire mitochondrial, ce qui contribue à la génération du gradient de concentration de protons à travers la membrane interne (Wikstrom et Verkhovsky, 2007). Des perturbations de l'activité du complexe IV ont été associées au développement : i) de myopathies (Holt *et al.*, 1989; Zeviani *et al.*, 1991; Rahman *et al.*, 1999), ii) de dysfonctionnements hépatiques (Edery *et al.*, 1994) et iii) d'encéphalopathies telles que le syndrome de Leigh (Ohno *et al.*, 1990; Lee *et al.*, 1996; Adams *et al.*, 1997; Savasta *et al.*, 2001).

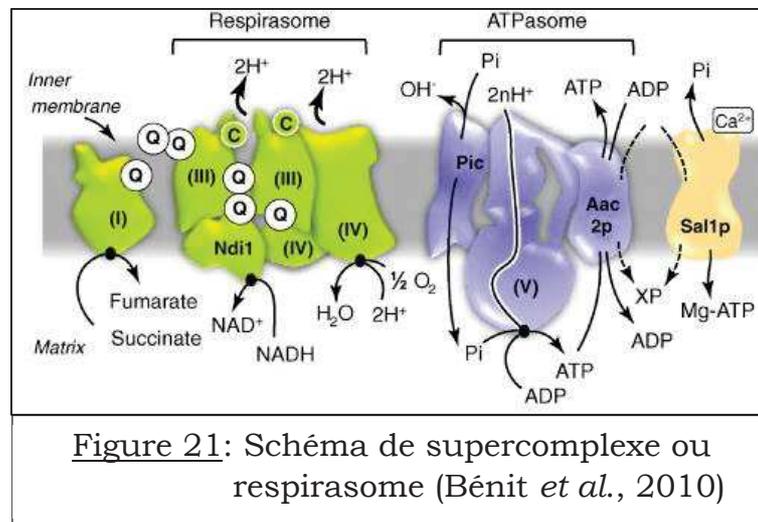
### 3.2.1.5-L'ATP synthase

L'ATP synthase, parfois appelée complexe V, est l'enzyme qui clôt la phosphorylation oxydative. C'est une enzyme fonctionnellement réversible. Elle peut synthétiser de l'ATP en utilisant la force proton-motrice à travers la membrane interne de la mitochondrie mais peut aussi hydrolyser l'ATP et pomper les protons hors de la matrice quand aucun gradient transmembranaire de protons n'est généré par la chaîne respiratoire. L'ATP synthase est constituée de 2 segments fonctionnels : le segment F<sub>0</sub> et le segment F<sub>1</sub>. Le segment F<sub>0</sub>, appelé stator, est un segment transmembranaire composé de multiples sous-unités formant le canal à protons. Le segment F<sub>1</sub>, appelé rotor, constitué par des sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  et  $\delta$ , est le composant catalytique de l'enzyme. En effet, la sous-unité  $\alpha$  possède les sites de liaison pour l'ADP et le phosphate inorganique (Pi). L'association des sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  forme une structure en forme d'hélice. Elle est associée au segment F<sub>0</sub> par la sous-unité  $\gamma$ . Le passage des protons dans le canal du segment F<sub>0</sub> va induire la rotation de la structure en hélice via la sous-unité  $\gamma$ . Cette rotation permet la formation de l'ATP par la liaison entre l'ADP et le Pi (Schon *et al.*, 2001; Grover *et al.*, 2008). La libération de l'ATP ainsi formé nécessite l'énergie apportée par la force proton-motrice. Des mutations dans les gènes codant pour des sous-unités de cette enzyme ont été reliées au développement de NARP (neuropathie, ataxie et rétinite pigmentaire) ou du syndrome de Leigh (Tsao *et al.*, 2001).

### 3.2.1.6- Supercomplexes ou respirasomes

Un respirasome, ou supercomplexe, est un assemblage d'enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale formant une structure supramoléculaire englobant deux ou trois des complexes respiratoires I, III et IV (*figure 21*) (Bénil *et al.*, 2010; Dudkina *et al.*, 2011; Vartak *et al.*, 2013). Les différents complexes de la chaîne respiratoire ont été initialement présentés comme diffusant librement et indépendamment les uns des autres dans la membrane mitochondriale interne (Lenaz, 2001). Cependant, au fur et à mesure que les observations et les données se sont accumulées, il est apparu de plus en plus clairement que les complexes de la chaîne respiratoire avaient tendance à

s'organiser dans les membranes en structures supramoléculaires de grande taille appelées supercomplexes ou « respirasomes » (Heinemeyer *et al.*, 2007 ;



**Figure 21:** Schéma de supercomplexe ou respirasome (Bénil *et al.*, 2010)

Bénil *et al.*, 2010; Dudkina *et al.*, 2011; Vartak *et al.*, 2013). Dans les respirasomes, les complexes s'organisent en des ensembles d'enzymes en interaction (Schägger et Pfeiffer, 2000). En effet, les complexes I, III et IV s'assemblent pour former différents types de supercomplexes (Cruciat *et al.*, 2000; Schägger et Pfeiffer, 2000; Dudkina *et al.*, 2008; Vonck et Schäfer, 2009; Bénil *et al.*, 2010; Dudkina *et al.*, 2011; Vartak *et al.*, 2013). En revanche, le complexe II n'a pas encore été trouvé en association avec un autre complexe de la chaîne respiratoire (Bianchi *et al.*, 2004). L'ATP synthase forme également un supercomplexe ou ATPasome (*figure 21*) avec l'adénine nucléotide translocase (ANT) et le transporteur de phosphate (Papa *et al.*, 2006; Bénil *et al.*, 2010). Ces associations pourraient agir en canalisant les flux de substrats entre les complexes successifs, ce qui optimiserait l'efficacité des transferts d'électrons entre les différentes protéines qui les constituent (Schägger, 2002).

### 3.2.2-La phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative est le processus permettant la phosphorylation de l'ADP en ATP grâce à l'énergie libérée par l'oxydation de donneurs d'électrons par la chaîne respiratoire, selon la théorie du couplage chimiosmotique de Mitchell (1961). Dans le processus de phosphorylation

oxydative, des électrons à haute énergie provenant de NADH (nicotinamide adénine dinucléotide réduit) et de FADH<sub>2</sub> (flavine adénine dinucléotide réduit) sont transmis à l'oxygène, accepteur final, par la chaîne respiratoire située dans la membrane interne de la mitochondrie. Les électrons sont transportés par le NADH et le FADH<sub>2</sub>, respectivement aux complexes I et II, puis transférés à l'ubiquinone, cette dernière les achemine au niveau du complexe III. L'arrivée des électrons au complexe IV constitue la fin de la chaîne d'oxydoréduction et entraîne la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. Les réactions associées au passage des électrons au niveau des complexes I, III et IV entraînent donc le passage de protons vers l'espace inter-membranaire à travers les complexes (*figure 20*). Ce passage établit un gradient électrochimique de protons qui crée une force motrice utilisée par l'ATP synthase pour phosphoryler des molécules d'ADP en ATP, assurant le couplage de la chaîne des oxydoréductions avec la production d'ATP (Stock *et al.*, 1999). L'ATP synthétisé traverse la membrane interne mitochondriale par l'intermédiaire de l'ANT qui est une translocase ADP/ATP. L'ANT fonctionne sous forme d'un antiporteur car le transport de l'ATP dans l'espace inter-membranaire est concomitant à la translocation d'un ADP dans la matrice mitochondriale (*figure 20*). Arrivé dans l'espace inter-membranaire, l'ATP diffuse passivement dans le cytosol via la protéine VDAC. Il y a donc un couplage entre les oxydations des équivalents réduits provoquant le transfert des électrons réalisées au sein de la chaîne respiratoire et la phosphorylation de l'ADP en ATP réalisée par l'ATP synthase. Ce couplage définit l'efficacité de la synthèse d'ATP.

Selon Chance (1965), le premier facteur de contrôle de la phosphorylation oxydative est la concentration en ADP extra-mitochondriale. Cependant, d'autres facteurs que l'ADP régulent et jouent un rôle primordial dans la phosphorylation oxydative. Parmi ces facteurs, on trouve : i) la concentration extra-mitochondriale en Pi, ii) l'approvisionnement en H<sup>+</sup> provenant de NADH et FADH<sub>2</sub>, iii) l'activité du complexe IV (Tager *et al.*, 1983).

Dans les conditions normales, 90 % de l'O<sub>2</sub> sont consommés au niveau de la mitochondrie. De cette consommation mitochondriale, 80 % sont utilisés pour la synthèse d'ATP et 20 % lors de la fuite de protons. Celle-ci est

caractérisée par le retour passif de protons dans la matrice (proton leak) et ceci sans passer par l'ATP synthase, donc sans générer d'ATP. Ces fuites membranaires diminuent la force proton-motrice et induisent une baisse de l'efficacité de l'oxydation phosphorylante (Murphy, 1989).

### 3.3-BIOGENESE MITOCHONDRIALE

La biogenèse mitochondriale est le processus par lequel les cellules augmentent leur masse mitochondriale individuelle et le nombre de copies pour augmenter la production d'ATP en réponse à une dépense énergétique plus importante (Sanchis-Gomar *et al.*, 2014; Valero, 2014). Elle est activée par de nombreux signaux différents pendant les périodes de stress cellulaire ou en réponse à des stimuli environnementaux (Boushel *et al.*, 2014; Sanchis-Gomar *et al.*, 2014; Valero, 2014). La mitochondrie possède son propre génome. Ce dernier code pour environ 1 % des protéines mitochondriales totales (13 protéines) et le reste des protéines (plus de 1500 protéines) est synthétisé grâce à la contribution des gènes nucléaires de la cellule (Calvo *et al.*, 2006). Cette double origine des protéines mitochondriales nécessite une régulation fine et coordonnée de leur expression (Scarpulla, 2006). Par conséquent, il existe des facteurs régulateurs clés pouvant être classés en deux catégories : les facteurs de transcription qui gouvernent l'expression du \*génom mitochondrial et les facteurs nucléaires qui contrôlent l'expression des gènes de la chaîne respiratoire codés par le génome nucléaire.

#### **3.3.1- Facteurs de transcription mitochondriaux**

La mitochondrie possède son propre système de transcription, dont les éléments sont codés par le génome nucléaire. L'action des facteurs de transcription mitochondriaux aboutit à la synthèse d'ADNmt.

##### *3.3.1.1- POLRMT (Polymerase RNA mitochondrial)*

L'existence d'une ARN polymérase mitochondriale a été mise en évidence chez la levure (Greenleaf *et al.*, 1986; Kelly et Lehman, 1986; Kelly *et al.*, 1986; Masters *et al.*, 1987) puis dans les cellules humaines (Tiranti *et al.*, 1997). La POLRMT initie la réplication de l'ADNmt par la fourniture d'amorces d'ARN.

Elle ne peut interagir avec la région promotrice et initier la transcription sans la présence de TFAM (mitochondrial transcription factor A) et d'au moins un autre facteur de transcription (TFB1M ou TFB2M) (Bogenhagen, 1996).

#### 3.3.1.2- TFAM (mitochondrial transcription factor A)

Le facteur de transcription TFAM contient deux domaines qui lui permettent de se fixer à l'ADN au niveau du site d'initiation de la transcription mitochondriale (Murugesapillai *et al.*, 2017). C'est un activateur clé de la transcription et de la réplication du génome mitochondrial. A son rôle essentiel dans la transcription mitochondriale, s'ajoute un rôle dans le maintien et la stabilisation de l'ADNmt (Larsson *et al.*, 1998) ainsi que dans la régulation de la réplication de l'ADNmt (Ekstrand *et al.*, 2004). TFAM interagit avec TFB1M (mitochondrial transcription factor B1) (McCulloch et Shadel, 2003).

#### 3.3.1.3- TFB1M et TFB2M (mitochondrial transcription factor B1 et B2)

Les facteurs de transcription TFB1M et TFB2M ont des actions similaires à celles des protéines de la famille des ARNr méthyltransférases (Falkenberg *et al.*, 2002; McCulloch *et al.*, 2002). Lors de l'initiation de la transcription, TFB1M ou TFB2M forme un complexe hétérodimérique avec la POLRMT. Ils interviennent dans la régulation de l'assemblage et de la stabilité du génome mitochondrial (Falkenberg *et al.*, 2002; McCulloch *et al.*, 2002; Metodiev *et al.*, 2009).

#### 3.3.1.4- mTERF (mitochondrial transcription termination factor)

Le facteur de transcription mTERF est impliqué dans la terminaison de la transcription de l'ADNmt (Kruse *et al.*, 1989). Parmi les trois régions transcriptionnelles de l'ADNmt (débutant par H1, H2 et LSP), seulement un site de terminaison de la transcription a été complètement décrit à la fin de la région transcrite à partir de H1 juste après le gène codant pour l'ARNr 16S (Christianson et Clayton, 1988). Il existe des preuves que mTERF participe à des interactions intramoléculaires qui établissent la structure tridimensionnelle nécessaire à la liaison de l'ADN (Daga *et al.*, 1993; Asin-Cayuela *et al.*, 2004).

### **3.3.2- Régulateurs transcriptionnels des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales**

L'expression des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales et les mécanismes de réplication/transcription de l'ADNmt, est un mécanisme complexe et finement régulé par l'intervention de divers facteurs de transcription et co-activateurs transcriptionnels.

#### *3.3.2.1- NRF1 (nuclear respiratory factor 1)*

L'action du facteur de transcription NRF1 (ou Nrf1) favorise l'augmentation de l'ADNmt et la duplication de la mitochondrie, améliorant ainsi la phosphorylation oxydative. En effet, NRF1 joue un rôle clef dans la régulation de l'expression de nombreux gènes nucléaires requis pour le fonctionnement de la respiration mitochondriale tels que les gènes codant pour des sous-unités des complexes de la chaîne respiratoire (Scarpulla, 2002). NRF1 est un puissant stimulateur de l'expression de TFAM, POLRMT, TFB1M et TFB2M, facteurs assurant la réplication et la transcription de l'ADNmt (Gleyzer *et al.*, 2005; Scarpulla, 2006; Wang *et al.*, 2006a).

#### *3.3.2.2- NRF2 (nuclear respiratory factor 2)*

NRF2 a été identifié comme étant un activateur du promoteur de la sous-unité IV de la COX (Virbasius *et al.*, 1993; Scarpulla, 2008). D'autres sites fonctionnels de liaison de NRF2 ont été identifiés dans les promoteurs de nombreux gènes codant pour i) des composantes de la chaîne respiratoire, ii) trois des quatre sous-unités de la succinate déshydrogénase et iii) TFAM, TFB1M et TFB2M (Scarpulla, 2002, Kelly et Scarpulla, 2004; Hock et Kralli, 2009).

#### *3.3.2.3- PPAR (Peroxisome proliferator-activated receptor)*

Les récepteurs nucléaires PPARs sont connus pour leurs effets sur le transport et le métabolisme des lipides. PPAR $\alpha$  et PPAR $\delta$  sont principalement des régulateurs de l'oxydation des lipides (Gulick *et al.*, 1994) alors que PPAR $\gamma$  est impliqué dans la synthèse et le stockage des lipides (Rosen *et al.*, 1999). Ces facteurs sont également impliqués dans la biogenèse mitochondriale de

manière tissu-spécifique (Hock et Kralli, 2009). L'activation de PPAR $\gamma$  et PPAR $\delta$  induit la biogenèse mitochondriale au niveau de la graisse blanche et du muscle squelettique respectivement. De plus, ces deux facteurs favorisent la biogenèse mitochondriale et le fonctionnement du métabolisme oxydatif au cours de l'activation alternative des macrophages.

#### 3.3.2.4- PGC1 $\alpha$ (PPAR gamma coactivator 1-alpha)

PGC1 $\alpha$  est un co-activateur transcriptionnel qui régule l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme énergétique. A ce titre, il constitue une pièce maîtresse dans la régulation de la biogenèse mitochondriale (Wu *et al.*, 1999; Sanchis-Gomar *et al.*, 2014; Valero, 2014; Dorn *et al.*, 2015). PGC1 $\alpha$  interagit avec de multiples facteurs de transcription. Il interagit notamment avec NRF1, NRF2 et ERR (estrogen-related receptor) afin d'induire l'expression de gènes codant pour des protéines de la chaîne respiratoire ainsi que pour des facteurs indispensables à la réplication et à la transcription mitochondriale (Wu *et al.*, 1999; Huss *et al.*, 2002; Kamei *et al.*, 2003; Huss et Kelly, 2004; Mootha *et al.*, 2004; Schreiber *et al.*, 2004). PGC1 $\alpha$  est également impliqué dans : i) la régulation de la détermination du type de fibre musculaire, ii) le contrôle de la pression artérielle, iii) la régulation de l'homéostasie du cholestérol cellulaire et iv) le développement de l'obésité (Pilegaard *et al.*, 2003; Liang et Ward, 2006).

#### 3.3.2.5- PGC1 $\beta$ (PPAR gamma coactivator 1-béta)

Le co-activateur PGC1 $\beta$  est une protéine qui présente des homologies de séquence avec PGC1 $\alpha$  tout en étant de poids moléculaire plus élevé (Lin *et al.*, 2002). PGC1 $\beta$  coactive en partie les mêmes facteurs de transcription que PGC1 $\alpha$  nécessaires pour induire l'expression de gènes cibles communs tels que les gènes impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique mitochondrial (Kressler *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2002; Meirhaeghe *et al.*, 2003; St-Pierre *et al.*, 2003; Arany *et al.*, 2007). Cependant, PGC1 $\beta$  régule aussi d'autres facteurs de transcription qui ne sont pas des cibles de PGC1 $\alpha$ . En effet, PGC1 $\beta$  régule la lipogenèse hépatique et la sécrétion des VLDL (very low density lipoprotein) (Lin *et al.*, 2005; Wolfrum et Stoffel, 2006).

## **IV- OBESITE ET DESORDRES METABOLIQUES ASSOCIES**

### **4.1- OBESITE**

Un individu ayant un excès de poids par augmentation de la masse adipeuse est dit obèse. L'obésité se définit par un indice de masse corporelle égal ou supérieur à 30 (OMS, 2003; Turnbaugh *et al.*, 2006). L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle pouvant nuire à la santé (OMS, 2003). Cette organisation a reconnu l'obésité humaine comme une maladie en 1997.

#### **4.1.1-Prévalence de l'obésité**

L'obésité avait été considérée comme un problème spécifique aux pays développés, mais elle est également présente dans les pays en voie de développement (OMS, 2016). Depuis les années 2000, l'obésité est qualifiée de véritable pandémie mondiale. À l'échelle mondiale, le nombre de cas d'obésité est en nette augmentation. L'OMS estimait en 2008 que 1,5 milliard d'adultes (18 ans et plus) étaient en surpoids, parmi lesquels près de 500 millions d'obèses. Six ans plus tard, en 2014, le nombre d'obèses était estimé à plus de 600 millions (OMS, 2016). Globalement, environ 13 % de la population adulte mondiale dont 11 % des hommes et 15 % des femmes étaient obèses en 2014. Le nombre de personnes en surpoids devrait atteindre 3,3 milliards d'ici 2030 selon l'OMS avec un taux d'obésité avoisinant les 20 %. L'OMS estimait, en 2014, que 41 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses. Autrefois considérés comme étant plus spécifiquement liés aux pays ayant un niveau de vie élevé, le surpoids et l'obésité sont désormais en augmentation dans les pays à revenu faible ou intermédiaire, en particulier en milieu urbain. En Afrique, le nombre d'enfants en surpoids ou obèses a pratiquement doublé, passant de 5,4 millions en 1990 à 10,6 millions en 2014. Près de la moitié des enfants de moins de 5 ans en surpoids ou obèses vivaient en Asie en 2014 (OMS, 2016). L'obésité et le surpoids sont le plus souvent liés à un déséquilibre énergétique entre les calories consommées et celles dépensées.

#### 4.1.2-Causes de l'obésité

Le niveau de consommation d'un individu d'une part, et sa dépense énergétique d'autre part, sont les deux grands facteurs traditionnellement reconnus dont les niveaux relatifs peuvent conduire au développement de l'obésité (Tremblay et Chaput, 2008). Lorsque l'organisme reçoit plus qu'il ne dépense, il stocke une partie de l'apport, sous forme de graisses dans le tissu adipeux. Cependant, la prise en compte de ces deux grands facteurs n'explique pas l'explosion de l'obésité contemporaine. L'épidémie d'obésité implique des perturbations des mécanismes neuronaux et humoraux qui contrôlent la satiété et l'appétit. Ces stimulations répondent à des signaux génétiques, nutritionnels, environnementaux et psychologiques. Au niveau mondial on assiste à une augmentation de la consommation d'aliments hypercaloriques, riches en sucres et en graisses, associée à une faible activité physique et un mode de vie sédentaire. D'autres facteurs favorisant l'obésité ont été mis en évidence ces dernières années.

Il a été montré qu'un dérèglement du sommeil est à l'origine de plusieurs modifications neuroendocriniennes obésogènes causant la suralimentation et la prise de poids (Tremblay et Chaput, 2008; Chaput *et al.*, 2009; Nedeltcheva *et al.*, 2010). Ceci serait dû à un taux de sécrétion de leptine plus faible (Chaput *et al.*, 2007). Selon Carter *et al.*, (2011) chaque heure de sommeil en moins chez des enfants âgés de 3 et 5 ans se traduit par une prise de poids de 0,7 kg en plus à l'âge de 7 ans par rapport au poids moyen. Le stress chronique est corrélé avec une mauvaise qualité du sommeil. Une relation a été établie entre le stress et des envies soudaines et parfois incontrôlables de certains aliments, souvent gras et sucrés (Yau et Potenza, 2013). La consommation excessive de boissons alcoolisées, notamment riches en sucres (cocktails sucrés, vins doux, bières, etc.), est également corrélée à la survenue de l'obésité (Wannamethee *et al.*, 2005; French *et al.*, 2010).

Il existe maintenant des preuves convaincantes que des produits dits « obésogènes », toxiques ou non, d'origine industrielle, introduits dans l'alimentation et l'environnement peuvent altérer les processus métaboliques et prédisposer certaines personnes à la prise de poids (Baillie-Hamilton, 2002; Newbold *et al.*, 2009; Janesick et Blumberg, 2011). Il s'agit notamment des

produits chimiques, de médicaments ou de produits phytosanitaires. Certains produits chimiques de synthèse perturbent particulièrement le système endocrinien. Ces perturbateurs endocriniens, et surtout les polluants organiques persistants, ne cessent d'augmenter dans l'environnement et dans l'organisme. Leur capacité à imiter ou à inhiber certaines hormones (œstrogènes, testostérone, hormones thyroïdiennes, etc.) est démontrée. Ce faisant, ils sont donc suspectés d'avoir un impact important dans cette récente «épidémie» mondiale d'obésité (Tremblay et Chaput, 2008; Casals-Casas et Desvergne, 2011).

De récentes études établissent un lien entre la perturbation de la flore intestinale (le microbiote) et l'obésité (Murphy *et al.*, 2013; Jess, 2014). En effet, le microbiote intestinal des sujets obèses apparaît différent de celui d'un sujet normal (Turnbaugh *et al.*, 2006; Tilg, 2010; Ridaura *et al.*, 2013). La perte de poids serait par ailleurs accompagnée d'une tendance au rétablissement de la flore intestinale.

La contribution de l'hérédité dans la survenue de l'obésité a été objectivée par la mise à jour de gènes dont la mutation favorise la prise de poids (Clément *et al.*, 1995; Shiwaku *et al.*, 2003; Frayling *et al.*, 2007; Tang *et al.*; 2011).

#### 4.2-DESORDRES METABOLIQUES ASSOCIES A L'OBESITE

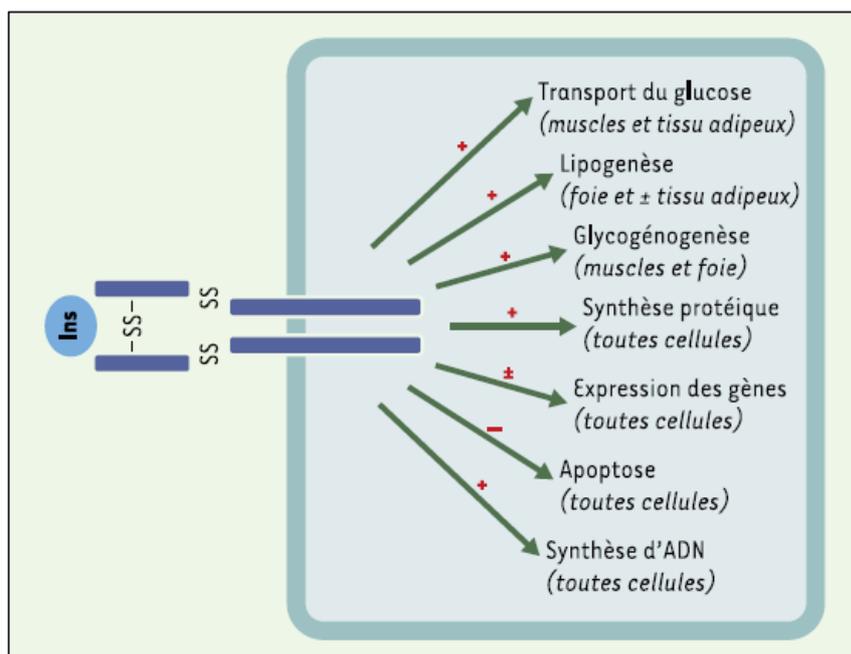
L'obésité est associée à des anomalies et complications métaboliques multiples. L'obésité augmente le risque de survenu de certaines pathologies telles que le diabète type 2, les maladies cardiovasculaires, la stéatose hépatique non alcoolique, l'hypertension, la dyslipidémie, le syndrome métabolique et certains cancers. Elle augmente aussi les risques de morbidité et de mortalité associés à ces pathologies.

##### **4.2.1-L'insulino-résistance (IR)**

L'insuline joue un rôle anabolique majeur au niveau de l'organisme, dans la mise en réserve et l'utilisation des substrats énergétiques, qu'ils soient glucidiques ou lipidiques : i) entrée de glucose dans la cellule, ii) synthèse de glycogène et lipogénèse, iii) inhibition de la glycogénolyse, de la

néoglucogénèse et de la lipolyse. Elle exerce également des fonctions pléïotropes sur le métabolisme protéique (augmentation de la synthèse et inhibition de la protéolyse), la croissance, le contrôle de l'apoptose et le développement (*Figure 22*) (Saltiel et Kahn, 2001). En se fixant sur son récepteur spécifique, l'insuline exerce ses effets dans de nombreux tissus. Cependant, ses trois principaux tissus cibles sont le foie, le tissu adipeux et le muscle.

Lorsque, à des concentrations physiologiques, on observe une diminution ou une absence d'action de l'insuline sur ses tissus cibles, on parle d'insulino-résistance (Cefalu, 2001). Il en résulte une hyperinsulinémie compensatrice qui permet le maintien de l'homéostasie glucidique et lipidique (Wang *et al.*, 2004). L'apparition de l'IR précède généralement de 10 à 20 ans l'installation d'un diabète de type 2 (Warram *et al.*, 1990) d'où l'importance de détecter précocement ce facteur de risque et de mettre en place des mesures thérapeutiques adéquates. La relation entre insulinémie et glycémie est bien connue et a conduit à l'élaboration de l'indice HOMA (Homeostasis Model Assessment) (Matthews *et al.*, 1985) qui permet de mettre en évidence une IR périphérique autant chez les sujets obèses que chez les sujets avec un indice de masse corporel normal.



**Figure 22:** Effets pléïotropes de l'insuline.  
(Saltiel et Kahn, 2001)

(+) = activation, (-) = inhibition

#### 4.2.1.1-Obésité et insulino-résistance

L'obésité prédispose les individus au développement d'une résistance à l'insuline notamment au niveau du foie et des muscles squelettiques. En 1963, Randle propose l'existence d'un cycle glucose-acide gras dans les cellules qui serait impliqué dans le développement de l'IR (Randle *et al.*, 1963). Chez les sujets obèses, la capacité d'absorption et de stockage des adipocytes est dépassée par l'apport important et régulier de matières grasses. Ce faisant, les acides gras s'accumulent dans d'autres tissus tels que le foie et le muscle squelettique ayant des capacités limitées de stockage des lipides. Une telle accumulation anormale de lipides ectopiques (lipotoxicité) est fortement associée à la résistance à l'insuline (Consitt *et al.*, 2009; Samuel *et al.*, 2010; Samuel, 2011). Dans ces tissus, les AG s'accumulent sous forme de monoacylglycérol, de diacylglycérol, d'acide phosphatidique, de triacylglycérol et de céramides (Schmitz-Peiffer, 2000; Cooney *et al.*, 2002; Itani *et al.*, 2002; Summers, 2006; Nagle *et al.*, 2009). Parmi ces dérivés d'acides gras, les taux intracellulaires élevés de diacylglycérol, de triacylglycérol et de céramides sont directement associés à la résistance à l'insuline (*figure 23*) (Choi *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009; Samuel *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2011).

L'obésité est associée à une réponse inflammatoire chronique, caractérisée par une production anormale d'adipokines et l'activation de voies de signalisation pro-inflammatoires, se traduisant par une induction de marqueurs plasmatiques de l'inflammation (Hotamisligil *et al.*, 1993; Samad *et al.*, 1996; Fried *et al.*, 1998). À l'inverse, une réduction pondérale est associée avec une normalisation de ces marqueurs de l'inflammation (Van Dielen *et al.*, 2004; Cottam *et al.*, 2004; Ryan et Nicklas, 2004). On désigne sous le terme « adipokine », toute protéine sécrétée et synthétisée par les adipocytes (Trayhurn et Wood, 2004). De nombreuses études ont montré que la production de certaines d'entre elles était associée à l'insulino-résistance. Il s'agit, en particulier, de la leptine (Shimomura *et al.*, 1999a; Ebihara *et al.*, 2001; Colombo *et al.*, 2002; Oral *et al.*, 2002), du TNF-alpha (Hotamisligil *et al.*, 1993; Kroder *et al.*, 1996; Hotamisligil *et al.*, 1996; Muoio et Newgard, 2005), de l'IL-6 (Mooney *et al.*, 2001; Bastard *et al.*, 2002; Grimble, 2002;

Lagathu *et al.*, 2003), de l'adiponectine (Yamauchi *et al.*, 2002; Jackson *et al.*, 2005) et de la résistine (Steppan *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2005).

Cette IR va se manifester principalement au niveau du muscle, du foie et du tissu adipeux.

#### 4.2.1.2- Insulino-résistance musculaire

Le muscle squelettique est le tissu insulino-sensible le plus abondant. Il est le principal site d'utilisation du glucose alimentaire, assurant ainsi 75 à 90 % de l'utilisation du glucose en réponse à l'insuline (Zurlo *et al.*, 1990). L'absorption du glucose dans le muscle est essentiellement dépendante de l'insuline *via* GLUT4, et environ 60 à 70 % de l'insuline de l'organisme est utilisée par le muscle (Smith, 2002). Deux voies de signalisation de l'insuline existe au niveau du muscle, il s'agit des voies MAPK (Mitogen-activated protein kinases) et PI3K (phosphatidylinositide-3-kinase). La principale voie étant celle de PI3K (*figure 24*) (Capeau, 2003).

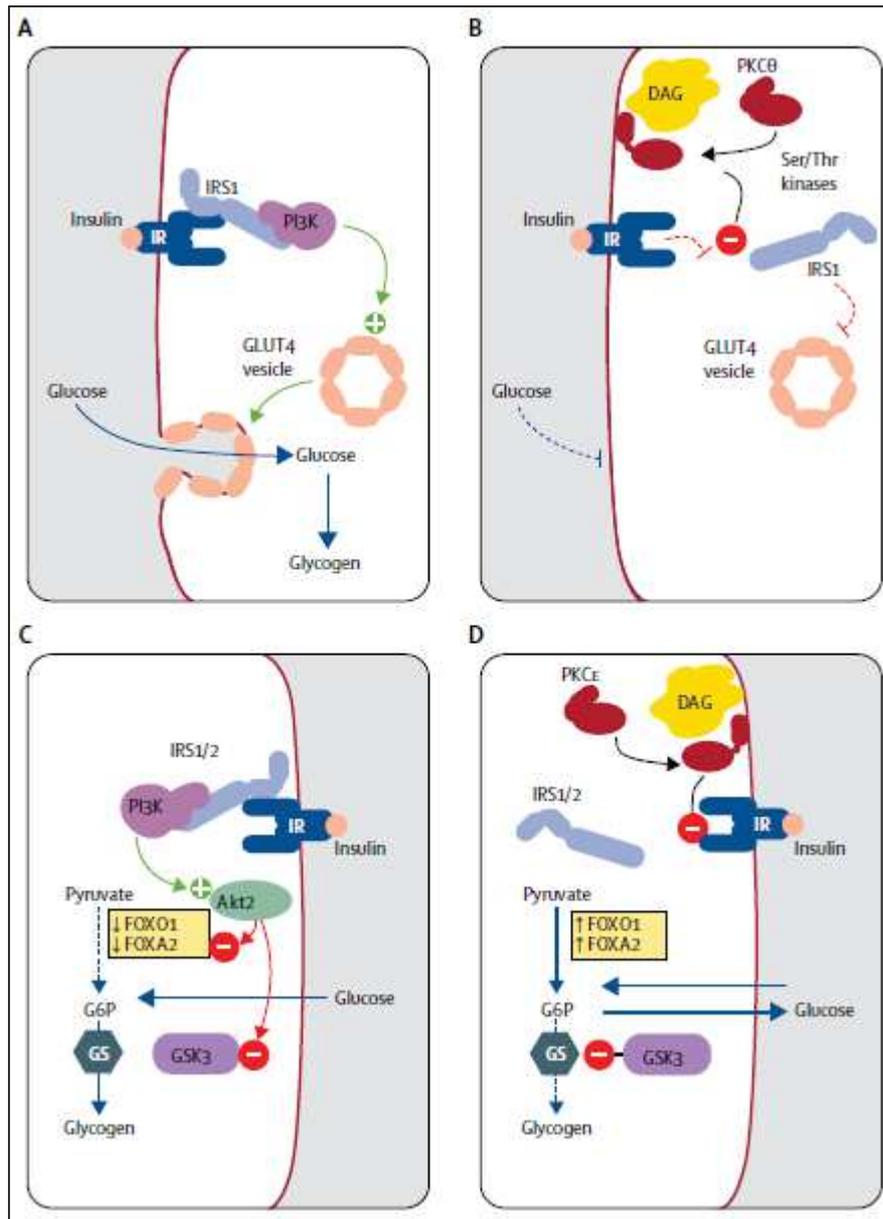


Figure 23: Mécanismes de sensibilité et de résistance à l'insuline dans le muscle et le foie (Samuel *et al.*, 2010).

(A) Muscle insulino-sensible. (B) Muscle insulino-résistant. (C) Foie insulino-sensible. (D) Foie insulino-résistant. IRS = substrat du récepteur de l'insuline. IR = récepteur d'insuline. PI3K = 1-phosphatidylinositol 3-kinase. GLUT4 = transporteur de glucose 4. DAG = diacylglycérol. PKC = protéine kinase C. Ser = serine. Thr = threonine. FOXO1 = boîte forkhead O1. FOXA2 = boîte de tête A2. G6P = glucose-6-phosphate. GS = glycogène synthase. GSK = glycogène synthase kinase. (+) = activation. (-) = inhibition

————> = augmentation ou accumulation de substrat.

.....> = inhibition de la voie

En présence de glucose, l'insuline se fixe à son récepteur transmembranaire qui s'active par autophosphorylation et phosphoryle à son tour ses substrats intracellulaires (IRS: Substrat du récepteur de l'insuline). La phosphorylation des IRS permet l'activation de p85 et p110, deux sous-unités régulatrices de la PI3K, avec formation de PIP3 (phosphatidylinositol 3, 4, 5 triphosphate) qui recrute et active à son tour la PDK1 (Phosphatidyl inositol-Dependant Kinase 1). Cette Sérine/Thréonine kinase active ensuite la Protéine Kinase B (PKB ou Akt). Dans le tissu musculaire, la kinase Akt phosphoryle son substrat (AS 160, « Akt Substrate » 160), une étape essentielle dans la mobilisation des vésicules contenant le GLUT4 vers la membrane cellulaire (*figure 25*) (Watson et Pessin, 2007; Thorn *et al.*, 2013). Le glucose est ensuite facilement capté *via* le GLUT4 dans la cellule et rapidement phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P) grâce à une hexokinase. Le G6P est ensuite métabolisé selon différentes voies régulées par des mécanismes hormonaux en fonction des besoins métaboliques : la glycolyse, la néoglucogénèse, la voie des pentoses phosphates et la glycogénogénèse. L'activation de cette voie de signalisation est cruciale dans tous les tissus insulino-sensibles, et par conséquent son dysfonctionnement provoque une insulino-résistance et une hyperinsulinémie (Gill *et al.*, 2005).

L'insulino-résistance musculaire a des conséquences diverses. Sur le métabolisme glucidique, l'IR entraîne : i) une diminution de la translocation des GLUT4 avec une diminution du transport du glucose (Hunter et Garvey, 1998; Krook *et al.*, 2000); ii) une diminution de la transcription et la traduction du gène codant l'hexokinase II (Vogt *et al.*, 2000) et iii) une diminution de l'activation de la glycogène synthase phosphatase (diminution de glycogène) et de la pyruvate déshydrogénase (Abdul-Ghani et DeFronzo, 2010).

Sur le métabolisme lipidique, l'IR entraîne : i) une diminution de l'oxydation des acides gras (Kelley *et al.*, 1999; Turcotte *et al.*, 2001; Blaak, 2003, 2005) et ii) une augmentation des lipides intramusculaires (Storlien *et al.*, 1991; Pagliassotti *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2005).

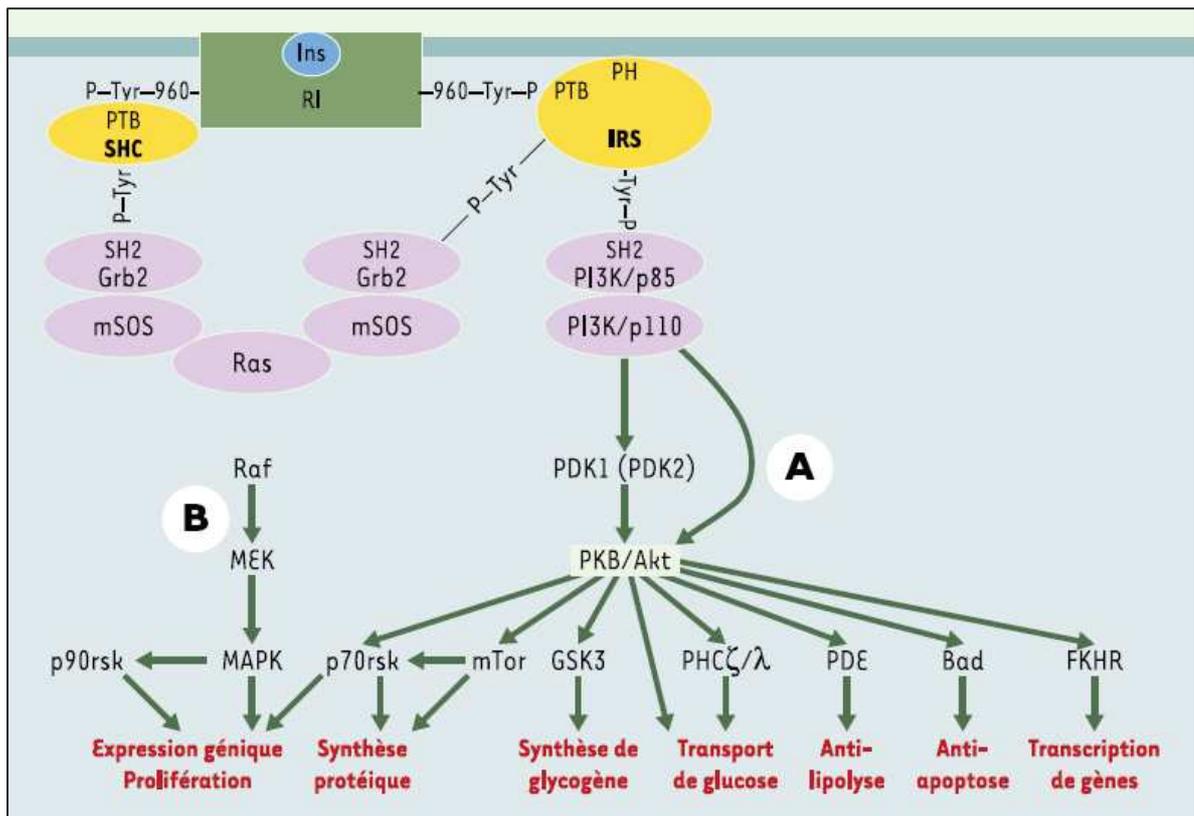


Figure 24: Principales voies de signalisation par l'insuline : voies PI3 kinase et MAP kinase (Capeau, 2003).

RI = récepteur de l'insuline; IRS = substrate du récepteur de l'insuline; PTB = phosphotyrosine binding; SH2 = src homology 2; PI3K = phosphatidyl-inositol 3 kinase; Grb2 = growth factor receptor-bound protein 2; SHP2 = SH2 domain protein tyrosine phosphatase-2; (PKB)/Akt = protéine kinase B; PDK1/2 = 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1/2; GSK3 = glycogène synthase 3 kinase; mTOR = mammalian target of rapamycin; MEK = MAP kinase kinase

L'IR altère la fonction mitochondriale par i) une diminution de l'expression du gène codant PGC-1 $\alpha$  avec diminution de la densité mitochondriale (Patti *et al.*, 2003; Morino *et al.*, 2005), ii) une diminution de la phosphorylation oxydative (Abdul-Ghani et DeFronzo, 2010), iii) des anomalies de la morphologie des mitochondries et une altération de la respiration mitochondriale et de la synthèse d'ATP (Abdul-Ghani et DeFronzo, 2010).

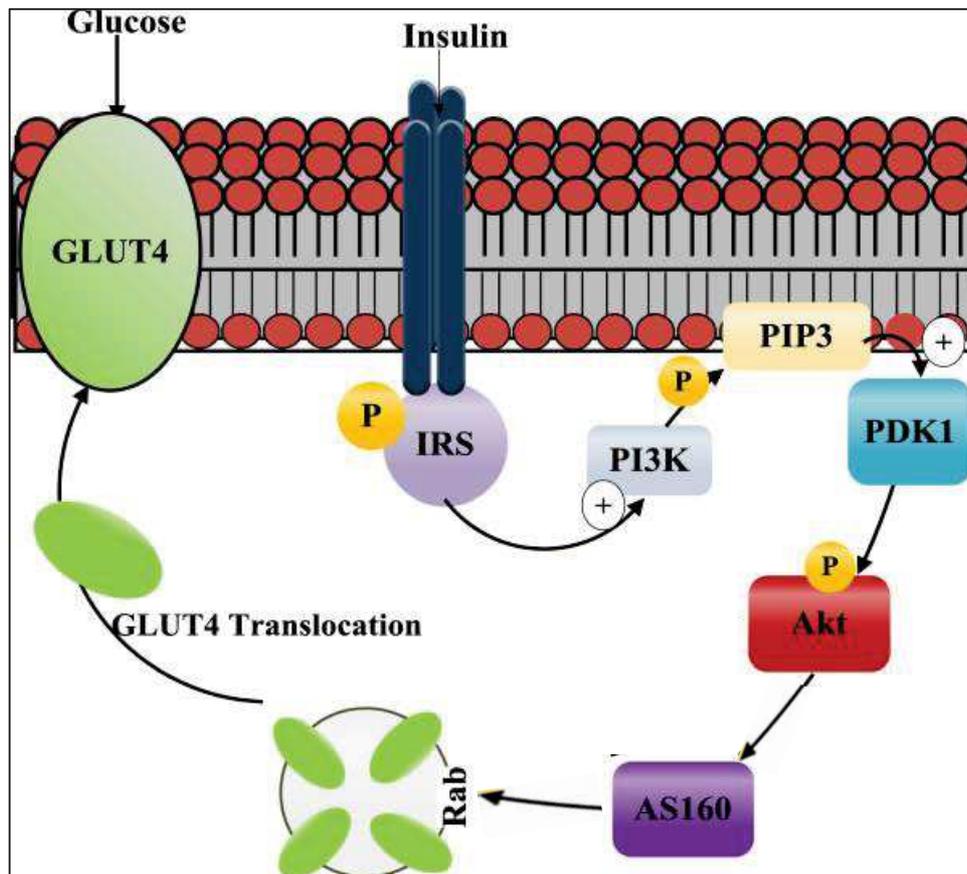


Figure 25: Rôle de l'insuline dans la translocation de GLUT4 (Thorn *et al.*, 2013).

IRS = substrate du récepteur de l'insuline; PI3K = phosphatidyl-inositol 3 kinase; PIP3 = phosphatidylinositol 3, 4, 5 triphosphate; PDK1 = 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1; Akt = protéine kinase B; AS160 = Akt Substrate 160; GLUT4 = Transporteur 4 du glucose

Au cours de l'IR on observe une altération de la voie de signalisation de l'insuline telle : i) une diminution de la phosphorylation de la tyrosine de IRS1 et de l'activation associée de PI3K (Saad *et al.*, 1993; Folli *et al.*, 1993; Yu *et al.*, 2002), ii) une diminution de la phosphorylation et de l'activité de Akt (Newton, 2003; Dries *et al.*, 2007; Watson et Pessin, 2007), iii) une diminution de la phosphorylation et de l'activité de GSK-3 (Lewis *et al.*, 1990; Takayama *et al.*, 1998).

#### 4.2.1.3- Insulino-résistance hépatique

L'action de l'insuline dans le foie a de nombreuses similitudes avec l'action de l'insuline dans le muscle. Dans le foie, l'insuline active le récepteur de l'insuline, qui phosphoryle IRS1 et IRS2, entraînant l'activation de PI3K et de Akt2 (*figure 23C*) (Previs *et al.*, 2000; Samuel *et al.*, 2010). À ce stade, l'activation de l'Akt2 favorise la synthèse du glycogène et inhibe la gluconéogenèse. L'activation de sérine kinases induite par le stress cellulaire selon plusieurs mécanismes, conduirait à l'inactivation du signal insulinémique.

L'accumulation d'intermédiaires lipidiques dans les cellules hépatiques activerait la PKC $\epsilon$  (Protein kinase C epsilon) qui serait responsable de la phosphorylation d'IRS-2 sur des sérines et ainsi aboutirait à l'inhibition du signal insulinémique (*figure 23D*) (Samuel *et al.*, 2004; Samuel *et al.*, 2007; Samuel *et al.*, 2010). Par ailleurs, au niveau des cellules de Kupffer, les acides gras libres activent le toll-like receptor 4 (TLR4) qui *via* la voie NF-kB (nuclear factor-kappa B) entraîne une augmentation des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$  (Shi *et al.*, 2006), qui sont impliquées dans le développement de l'insulino-résistance (Emanuelli *et al.*, 2000; Senn *et al.*, 2003; Bastard *et al.*, 2006; Shoelson *et al.*, 2007; De Luca et Olefsky, 2008).

#### 4.2.1.4- Insulino-résistance du tissu adipeux

Le transport du glucose à l'intérieur des adipocytes est assuré par les GLUT4 qui sont insulino-dépendants. Il est estimé que le tissu adipeux représente environ 10 % de l'absorption de glucose de l'organisme (Smith, 2002). En cas d'IR, on observe dans les adipocytes une réduction de la translocation de GLUT4, une perturbation des voies de signalisation intracellulaire par réduction de l'expression du gène codant pour IRS 1, par diminution de l'activation de PI3K et de Akt (Smith, 2002; Wilcox, 2005). La perturbation de la translocation de GLUT4 réduit l'entrée du glucose dans les adipocytes. Dès lors, pour assurer ses besoins énergétiques l'adipocyte a recours à l'oxydation des acides gras, tout en libérant des acides gras libres dans la circulation. Ces AGL sont, en absence de G6P, utilisés par d'autres organes (foie, cœur, etc.) qui les convertissent en corps cétoniques (Denton et

Tavaré, 1997; Wilcox, 2005). En effet, l'insulino-résistance du tissu adipeux a pour conséquence majeure une augmentation de l'hydrolyse des triglycérides par la lipase hormonosensible (LHS) qui n'est plus inhibée par l'insuline (Sanyal *et al.*, 2001; De Almeida *et al.*, 2002; Lewis *et al.*, 2002). Ce flux accru d'acides gras libres tend à favoriser, au niveau hépatique, la production de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) (Grundy, 2004). De plus, la réduction de l'activité de la lipoprotéine lipase par l'insulino-résistance, diminue l'absorption périphérique des triglycérides provenant du VLDL. Ces mécanismes contribuent à l'hypertriglycéridémie observée au cours de l'insulino-résistance (Krauss et Siri, 2004).

En plus des acides gras libres, le tissu adipeux sécrète un certain nombre de cytokines qui ont des effets systémiques sur la résistance à l'insuline. Il s'agit notamment de l'IL-6, du TNF $\alpha$ , de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 (PAI-1), de l'angiotensinogène et de la leptine qui sont associés à une augmentation de la résistance à l'insuline et de l'adiponectine dont l'action améliore la sensibilité à l'insuline (Devaraj *et al.*, 2004).

#### **4.2.2-Stéatose hépatique non alcoolique**

Le développement d'une stéatose hépatique est la conséquence d'un déséquilibre de l'homéostasie lipidique hépatique. Ce déséquilibre peut être causé par des perturbations isolées ou concomitantes telles que : i) l'augmentation de l'apport hépatique en acides gras libres ii) l'augmentation de la synthèse des triglycérides hépatiques iii) la diminution de la synthèse et de la sécrétion des VLDL et iv) la diminution de l'oxydation des acides gras hépatiques.

##### *4.2.2.1-Insulino-résistance adipocytaire et Stéatose hépatique*

L'insulino-résistance du tissu adipeux serait impliquée dans le développement de la stéatose hépatique. En effet, 80 % des sujets obèses présentent une stéatose hépatique (Sanyal, 2002). La lipolyse accrue au niveau du tissu adipeux en état d'insulino-résistance entraîne une augmentation de l'apport d'acides gras au niveau hépatique (Utzschneider et Kahn, 2006; Abdelmalek et Diehl, 2007; Marchesiniet *et al.*, 2008). Selon Donnelly *et al.* (2005), les

triglycérides hépatiques sont constitués à 59 % d'acides gras libres sanguins. Le tissu adipeux insulino-résistant n'assure plus sa fonction de stockage des triglycérides d'où l'augmentation de la concentration sanguine en acides gras libres. L'augmentation d'AGL plasmatiques stimule l'activation d'Akt qui favorise la translocation des récepteurs membranaires FAT/CD36 (Fatty acid translocase) et FABP1 (fatty acid binding proteins), ce qui augmente l'absorption d'AG (Glatz *et al.*, 2010). L'expression de FAT/CD36 et FABP1 est augmentée en cas d'obésité (Ge et Elghetany, 2005; Shi *et al.*, 2012) L'implication de la lipolyse adipocytaire dans le développement de la stéatose hépatique a été mis en évidence par la diminution de la quantité des triglycérides hépatiques chez des souris dont le gène codant pour la lipase hormonosensible a été inactivé, (Voshol *et al.*, 2003, Park *et al.*, 2005). Le tissu adipeux viscéral est plus fortement associé à la stéatose hépatique que le tissu adipeux sous-cutané. Le contenu en lipides hépatiques augmente de 21 % pour un gain de 1 % de tissu adipeux sous-cutané et de 104 % pour un gain de 1 % de tissu adipeux viscéral (Thomas *et al.*, 2005). Selon certains auteurs (Girard et Lafontan, 2008; Lafontan et Girard, 2008), cette forte implication du tissu adipeux viscéral dans le développement de la stéatose hépatique s'explique par : i) son lien direct avec le foie *via* la circulation sanguine portale, ii) sa résistance à l'action anti-lipolytique de l'insuline et sa sensibilité aux effets lipolytiques des catécholamines.

#### *4.2.2.2-Implication de l'hyperinsulinémie et l'hyperglycémie dans la stéatose hépatique*

L'insulino-résistance est marquée par l'augmentation plasmatique des taux d'insuline (hyperinsulinémie) et de glucose (hyperglycémie). Hyperglycémie et hyperinsulinémie favorisent une augmentation de la lipogénèse hépatique. Les acides gras issus de la synthèse *de novo* sont impliqués dans la biosynthèse de 30 % des TG hépatiques (Donnelly *et al.*, 2005). Plusieurs études ont mis en évidence l'implication de la lipogénèse dans le développement de la stéatose hépatique (Diraison *et al.*, 2003; Donnelly *et al.*, 2005; Nakamuta *et al.*, 2005; Postic et Girard, 2008).

L'augmentation de la lipogenèse hépatique implique des facteurs de transcription. L'hyperinsulinémie favorise la stéatose hépatique par activation du facteur de transcription SREBP-1c (Sterol regulatory element-binding protein 1) dans le foie, conduisant ainsi à l'augmentation de la transcription des gènes codant pour des enzymes impliquées dans la lipogenèse (Shimomura *et al.*, 1999b; Bécard *et al.*, 2001; Yahagi *et al.*, 2002). En effet, la surexpression hépatique de SREBP-1 entraîne, chez les souris mutantes, une induction importante de l'expression des gènes codant pour la FAS (Fatty acid synthase), l'ACC (Acétyl Coenzyme A Carboxylase) et de nombreuses enzymes lipogéniques (Shimano *et al.*, 1996, 1997). Il est à noter que physiologiquement, l'expression de ces gènes est entièrement sous le contrôle de l'insuline et du glucose (Girard *et al.*, 1997). L'hyperglycémie intervient dans l'augmentation de la lipogenèse hépatique par activation du facteur de transcription ChREBP (Carbohydre-responsive element-binding protein) qui, en synergie avec SREBP-1c va augmenter l'expression des gènes codant pour les enzymes lipogéniques (Dentin *et al.*, 2004; Iizuka *et al.*, 2004; Ishii *et al.*, 2004; Dentin *et al.*, 2006; Iizuka *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006b).

Un autre facteur de transcription impliqué dans le développement de la stéatose hépatique *via* l'augmentation de la lipogenèse semble être PPAR $\gamma$ . Physiologiquement peu exprimé dans le foie, PPAR $\gamma$  présente une augmentation de son expression dans plusieurs modèles murins d'obésité développant une stéatose hépatique (Burant *et al.*, 1997; Chao *et al.*, 2000; Memon *et al.*, 2000; Bedoucha *et al.*, 2001; Inoue *et al.*, 2005). L'absence d'expression hépatique de PPAR $\gamma$  entraîne une atténuation de la stéatose hépatique (Gavrilova *et al.*, 2003; Matsusue *et al.*, 2003). SREBP-1c est impliqué dans l'activation de la transcription de PPAR $\gamma$  et la stimulation de la production de ses ligands (Kim *et al.*, 1998; Fajas *et al.*, 1999).

#### **4.2.3-Le diabète de type 2**

Le diabète se définit comme la présence d'une hyperglycémie chronique supérieure à 1,26 g/L à jeun. Au cours de l'obésité, apparaît souvent une insulino-résistance avec comme conséquence une hyperglycémie. L'insulino-

résistance induite par l'obésité (Consitt *et al.*, 2009; Samuel *et al.*, 2010; Samuel, 2011) se traduira à terme par un diabète de type 2 (DT2). L'apparition de l'IR précède généralement de 10 à 20 ans l'installation d'un DT2 (Warram *et al.*, 1990). Chez le sujet obèse, l'augmentation de glucose circulant génère une hyperinsulinémie. Il s'en suit une résistance à l'action de l'insuline qui stimule à son tour sa sécrétion pancréatique. Progressivement le pancréas s'épuise, le sujet devient intolérant au glucose et développe un DT2 (Warram *et al.*, 1990; Chiasson et Rabasa-Lhore, 2004; Festa *et al.*, 2008).

Chez des rats Zucker diabétiques, il a été observé une augmentation compensatoire spectaculaire de la masse des cellules  $\beta$  au début de l'obésité. Devant l'augmentation continue du poids corporel et l'aggravation de la résistance à l'insuline, la masse et la fonction des cellules  $\beta$  ont fini par diminuer. La diminution de la masse des cellules  $\beta$  chez ces animaux a été attribuée à une apoptose accrue (Unger, 1995; Finegood *et al.*, 2001). Des mécanismes similaires des cellules  $\beta$  semblent se produire chez l'homme en cas de DT2. La masse de cellules  $\beta$  augmente chez les sujets obèses non diabétiques par rapport aux témoins maigres et diminue chez les sujets obèses atteints d'intolérance au glucose ou de DT2. De même, l'apoptose des cellules  $\beta$  augmente chez les sujets obèses atteints d'intolérance au glucose ou de DT2 (Butler *et al.*, 2003; Festa *et al.*, 2008).

#### **4.2.4-Dyslipidémie et maladies cardiovasculaires**

Les anomalies lipidiques associées à l'obésité affectent toutes les fractions lipidiques (Mingrone *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2016). Elles sont caractérisées, à jeun, par une augmentation des taux plasmatiques de triglycérides, de cholestérol-LDL, de VLDL et d'Apo (B) et un faible taux de cholestérol-HDL (Musunuru, 2010; Mingrone *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2016). Cette dyslipidémie augmente le risque de MCV (Reaven, 2003, 2004; Musunuru, 2010; Mingrone *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2016). Dans les conditions physiologiques, les HDL forment un complexe avec les molécules de cholestérol déposées sur les parois des artères et les conduisent au foie pour être éliminés. Pour ce faire, le cholestérol lié aux HDL est appelé communément «bon cholestérol». En cas d'obésité, les HDL se chargent

préférentiellement en TG qu'en cholestérol, favorisant ainsi leur catabolisme (Kontush et Chapman, 2006). En plus d'être en concentration réduite chez le sujet obèse, les HDL sont également de petite taille (Pascot *et al.*, 2001). L'obésité favorise un état de stress oxydant qui oxyde les LDL (Lamarche *et al.*, 1999; Couillard *et al.*, 2005; Després et Lemieux, 2006). Dans l'espace sous endothélial, les LDL oxydées favorisent la formation de la plaque d'athérome (Libby *et al.*, 2011). Indépendamment d'autres facteurs de risque traditionnels, des études prospectives ont établi, chez l'homme et la femme, le lien entre la graisse intra-abdominale et le risque de développement de MCV (Fujimoto *et al.*, 1999; Nicklas *et al.*, 2004, 2006). Par ailleurs, de nombreuses études ont établi un lien entre l'obésité abdominale et i) l'hypertension artérielle (Poirier *et al.*, 2005; Tchernof et Després, 2013), ii) des dysfonctions endothéliales majeurs (Couillard *et al.*, 2005; Romero-Corral *et al.*, 2010; Virdis *et al.*, 2013), iii) un stress inflammatoire chronique de faible intensité (Cooke *et al.*, 2016), iv) une susceptibilité accrue à la thrombose (Romualdi *et al.*, 2007; Rattazzi *et al.*, 2015). Tous ces facteurs sont impliqués dans la survenue des MCV.

#### **4.2.5- Le syndrome métabolique**

Le lien entre l'obésité abdominale et l'IR est maintenant bien admis. Leur association a été identifiée comme risque majeur pour le développement de MCV et de DT2. Cette association, initialement nommée "syndrome X" par Reaven (1988) et "syndrome d'insulino-résistance" par d'autres, est désormais mieux connue sous le nom de "syndrome métabolique". Afin de faciliter son diagnostic et d'identifier les sujets à haut risque, différents groupes de travail ont proposé une définition du syndrome métabolique. Cette définition tient compte de l'association de facteurs de risque tels que : i) l'obésité abdominale, ii) une dyslipidémie athérogène, iii) une hypertension artérielle, iv) une résistance à l'insuline et/ou une intolérance au glucose et v) un état inflammatoire. Il est établi que tous ces facteurs de risque ont un lien avec l'obésité abdominale (Alberti *et al.*, 2006). Pour le "National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III" (NCEP ATP III), un individu est

atteint de syndrome métabolique s'il réunit au moins trois des critères suivants :

- i) un tour de taille supérieur à 102 cm chez l'homme et 88 cm chez la femme,
- ii) un taux de triglycérides sanguins supérieur à 1,7 mmol/L,
- iii) un taux de HDL-cholestérol sanguin inférieur à 1,0 mmol/L chez l'homme et 1,3 mmol/L chez la femme,
- iv) une tension artérielle supérieure à 130/85 mmHg,
- v) une glycémie à jeun supérieure à 6,1 mmol/L.

La fédération internationale de diabète propose en substance une définition similaire en incluant, pour le tour de taille, des valeurs seuils différentes pour chaque origine ethnique.

**MATERIEL ET  
METHODES**

## **I-MATERIEL**

### 1.1-LE MODELE ANIMAL

Les expérimentations animales ont été réalisées chez 40 rats mâles Albinos Wistar (Janvier Labs, Le Genest-St-Isle, France) âgés de 6 semaines. Dès leur arrivée, les rats ont été hébergés au CECEMA (Centre d'Élevage et de Conditionnement Expérimental des Modèles Animaux) de L'université de Montpellier. Ils ont été répartis au hasard en groupes et placés dans un environnement contrôlé : une température entre 20°C et 22°C, une humidité entre 45% et 50% et un cycle jour/nuit standard de 12 heures (20h00 à 08h00). Les animaux ont été manipulés selon les directives du Comité du Soins Animal de l'Université de Montpellier et du NIH (National Institutes of Health).

### 1.2-ECHANTILLONS D'HUILE ET DE GRAISSE

Trois huiles végétales et de la graisse animale ont été utilisées pour la préparation des régimes high fat. Ce sont l'huile de palme rouge, l'oléine de palme, l'huile d'olive et le saindoux.

L'huile de palme rouge et l'oléine de palme ont été fournies par la société SANIA Cie (Sania Cie, Zone industrielle de Vridi, Rue du Textile, Abidjan, Côte d'Ivoire). Nous avons utilisé de l'huile d'olive « vierge extra extraite à froid, classique, Origine Espagne » de la chaîne de distribution Auchan. Le saindoux a été fourni par la société CELYS, corps gras alimentaires (ALVA, Rezé, France).

Les régimes ont été composés selon les recommandations de l'AIN-93 (American Institute of Nutrition) (Reeves *et al.*, 1993) et préparés par l'UPAE (Unité de Préparation des Aliments Expérimentaux, INRA-Domaine de Vilvert, France). La composition des différents régimes est précisée dans le *tableau 6* et la composition lipidique des huiles végétales dans le *tableau 7*.

Tableau 6: Composition des régimes de l'étude

<b>Ingrédients (g/kg)</b>	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>
Caséine	165	200	200	200	200
Amidon de maïs	442,5	233,8	233,8	233,8	233,8
Maltodextrine	144	80	80	80	80
Saccharose	100	53	53	53	53
Huile de soja	50	25	25	25	25
Huile de palme rouge	0	300	0	0	0
Oléine de palme	0	0	300	0	0
Huile d'olive	0	0	0	300	0
Saindoux	0	0	0	0	300
Cellulose	50	50	50	50	50
Minéraux (AIN-93M)	35	42	42	42	42
Vitamines (AIN-93M)*	10	12	12	12	12
L-Cystine	2	2,4	2,4	2,4	2,4
Chlorure de choline \$	1,5	1,8	1,8	1,8	1,8

\*: La teneur en vitamine E est de 25 IU/kg régime au lieu de 75 IU/kg régime dans les différents régimes.

\$: Le bitartrate de choline a été remplacé par le chlorure de choline pour éviter la formation des calculs rénaux

Tableau 7: Composition en acides gras des huiles végétales

<b>Acides gras (%)</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>
14 :0	0,52	0,53	0,03
16 :0	38,1	36,5	16,9
16:1n-7	0,13	0,15	2,01
18:0	5,86	4,87	2,53
18:1 n-9	43,2	46,4	58,0
18:1 n-7	0,58	0,63	3,11
18:2 n-6	10,0	9,55	15,6
18:3 n-3	0,28	0,16	0,63
Total SFA	45,1	42,4	20,0
Total MUFA	44,4	47,7	63,6
Total PUFA	10,5	9,90	16,4
n-6	10,1	9,63	15,7
n-3	0,39	0,28	0,70
n-6/n-3	25,8	34,3	22,4
PUFA/SFA	0,23	0,23	0,82

## II-METHODES

### 2.1-TRAITEMENT ET SUIVI DES ANIMAUX

Après une semaine d'acclimatation, les animaux ont été répartis en cinq groupes de huit rats et nourris pendant 12 semaines avec : i) un régime contrôle composé de 5 % de soja, ii) un régime huile de palme rouge composé de 30 % d'huile de palme rouge et 2,5 % de soja, iii) un régime oléine de palme composé de 30 % d'oléine de palme et 2,5 % de soja, iv) un régime huile d'olive composé de 30 % d'huile d'olive et 2,5 % de soja et v) un régime saindoux composé de 30 % de saindoux et 2,5 % de soja. Les rats ont été mis à deux par cage avec un libre accès à l'eau et à la nourriture. La consommation alimentaire des rats a été mesurée tous les deux jours et ils ont été pesés une fois par semaine.

## 2.2-PRELEVEMENTS DES ORGANES

Après douze semaines d'expérimentation, les rats ont été sacrifiés après anesthésie par injection intra-péritonéale de pentobarbital sodique (Ceva Santé Animale, Libourne, France). Tous les animaux ont été mis à jeun la veille du sacrifice. Le sang, le foie, le muscle, l'aorte et le tissu adipeux ont été prélevés chez chaque rat. En dehors du sang, tous les organes ont été pesés avant traitement.

## 2.3-TRAITEMENT DES ORGANES

### **2.3.1-Le sang**

Le sang, prélevé au niveau de l'aorte abdominal à l'aide d'une seringue héparinée (héparine sodique, Panpharma SA Fougères, France), a été reparti dans un tube hépariné et un tube sec. Le sang contenu dans les tubes sec et hépariné a été centrifugé à 3000 g pendant 15 minutes à 4 °C. Plasma et sérum ont été aliquotés dans des cupules et conservés à -80 °C. Les globules rouges du tube hépariné, après avoir été rincé deux fois avec du sérum physiologique, ont été aliquotés et conservés à -80 °C pour le dosage de la SOD. Pour le dosage des isoprostanes, le plasma a été congelé à -80 °C en présence de 0,005 % de BHT (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluène).

### **2.3.2-Le foie**

Le foie, après avoir été pesé et rincé avec du sérum physiologique, a été coupé en plusieurs morceaux. Un morceau pour la biologie moléculaire (cryotube), un morceau pour les paramètres lipidiques (papier aluminium), un morceau pour les paramètres du stress oxydant (papier aluminium), un morceau pour l'histologie dans un tube de 15 mL contenant de la formaline à 10% (Sigma, France) faisant cinq fois le volume du prélèvement. Un morceau (environ 2 g) pour la purification de mitochondries fraîches dans un tube de 15 ml contenant du tampon sucrose (saccharose), a été broyé le même jour. Le reste du foie a été mis dans du papier aluminium. Le morceau destiné à l'histologie a été acheminé au Réseau d'Histologie Expérimentale de Montpellier (RHEM) pour inclusion dans la paraffine. Les autres

morceaux ont été mis dans de l'azote liquide avant d'être conservés à -80 °C.

### **2.3.3-Le muscle**

Chaque muscle gastrocnémien a été pesé et coupé en deux parties sensiblement égales conservées à -80 °C dans des cryotubes. Le gastrocnémien gauche a servi pour la biologie moléculaire et les paramètres lipidiques, le gastrocnémien droit pour le stress oxydant et les mitochondries. Le soléus droit a été incubé pendant 15 minutes à 30 °C dans du PBS (Phosphate Buffered Saline) à 0,6 µM d'insuline (Novorapid, Novo Nordisk Pharma, France) alors que le soléus gauche a été incubé en absence d'insuline. Après incubation, les deux soléus ont été conservés à -80 °C.

### **2.3.4-L'aorte**

Après prélèvement, l'aorte thoracique a été immergée dans une solution de Krebs-Henseleit modifiée (NaCl: 140 mM, KCl: 5 mM, MgCl<sub>2</sub>: 1 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,5 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,5 mM, HEPES: 10 mM, CaCl<sub>2</sub>: 2,5 mM, glucose: 11 mM, pH=7,4) puis a été acheminé au laboratoire pour l'analyse de la réactivité vasculaire le même jour.

### **2.3.5-Le tissu adipeux**

Le tissu adipeux péri-aortique (TAPA), le tissu adipeux péri-pancréatique (TAPP) et le tissu adipeux épидидymaire (TAE) ont été prélevés dans de la formaline 10 % (Sigma, France) et acheminés au RHEM pour inclusion dans la paraffine.

## **2.4-EXAMENS REALISES SUR CHAQUE ORGANE**

### **2.4.1-Le sang**

Le dosage des paramètres sanguins a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de biochimie de l'hôpital Lapeyronie du CHU de Montpellier et le laboratoire de Dynamique Musculaire et Métabolisme au sein de l'équipe d'Endocrinologie mitochondriale et nutritionnelle de l'INRA de Montpellier.

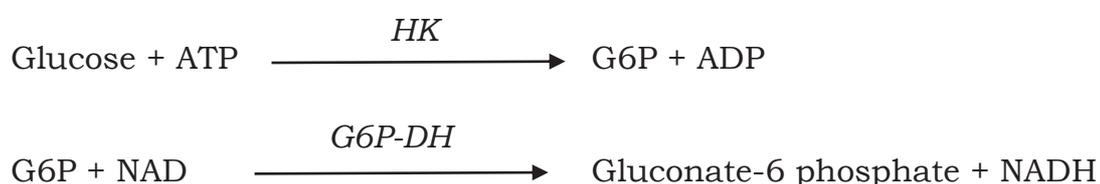
#### 2.4.1.1-Les paramètres de l'insulino-résistance

##### 2.4.1.1.1-Le test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT)

Une semaine avant le sacrifice, c'est-à-dire à la onzième semaine d'expérience, l'IPGTT a été réalisé chez les animaux. Après 2 heures de jeûne, chaque rat a reçu une injection intrapéritonéale de sérum glucosé 30 % en raison de 0,67 mL/100 g de poids. Le bout de la queue du rat, préalablement coupé à l'aide d'une paire de ciseaux, a permis de recueillir les gouttes de sang nécessaire pour la détermination de la glycémie sur bandelettes réactives à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek Active, Roche Diagnostics, USA). La glycémie a été déterminée à différents temps. D'abord à jeun (T0) avant l'injection intrapéritonéale du glucose, puis à 20 min, 40 min, 60 min, 90 min et 120 min après injection du glucose.

##### 2.4.1.1.2-Le glucose

La méthode de Kunst *et al.*, (1984) a été utilisée pour le dosage de la glycémie plasmatique. Il s'agit de la technique enzymatique à l'hexokinase (HK). Le glucose est phosphorylé par l'action de l'HK en présence d'ATP et d'ions magnésium pour produire du G6P et de l'ADP. La glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le G6P de façon spécifique pour produire du gluconate 6 phosphate; le NAD est simultanément réduit en NADH. L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la concentration en glucose de l'échantillon. Le dosage s'est fait avec le réactif GLUC3 (Cobas, Roche, France).



##### 2.4.1.1.3-L'insuline

La concentration plasmatique de l'insuline a été déterminée par la méthode ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) avec le kit « Mercodia rat insulin ELISA » (Mercodia AB, Uppsala, Sweden). Cette technique a permis

de détecter l'insuline et de la quantifier dans le plasma. Un anticorps dit « de capture » dirigé contre l'insuline est lié dans les puits d'une microplaque. Quand le plasma est ajouté dans chaque puits, l'anticorps anti insuline capte l'insuline contenu dans le plasma. Un second anticorps, dit « de détection » dirigé contre l'insuline plasmatique et couplé à une enzyme (la peroxydase) est ajouté dans chaque puits. Enfin, le substrat de l'enzyme (tétraméthylbenzidine) est ajouté et est converti par la peroxydase en une forme colorée, dont l'intensité détectable par spectrophotométrie à 450 nm, est proportionnelle à la quantité d'insuline dans le plasma.

Insulinémie et glycémie plasmatiques ont permis de calculer l'indice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-estimated Insulin Resistance) selon la formule suivante :

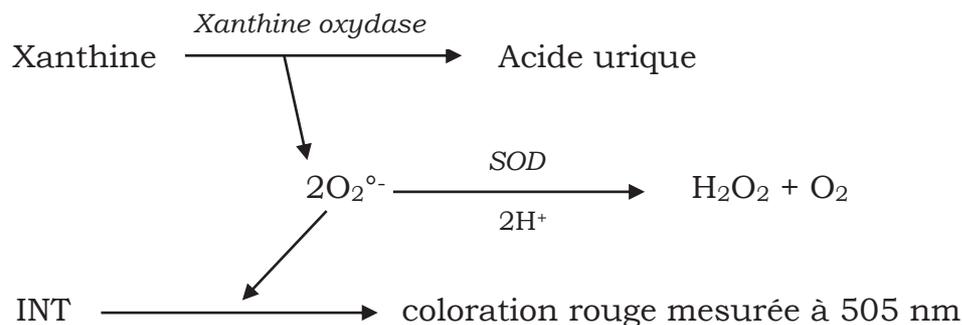
$$\text{HOMA-IR} = \text{Glycémie à jeun (mmol/L)} \times \text{Insulinémie à jeun (mU/L)} / 22,5$$

L'indice HOMA-IR a été mise au point par Matthews *et al.*, (1985) pour évaluer l'insulino-résistance.

#### *2.4.1.2-Les paramètres du stress oxydant*

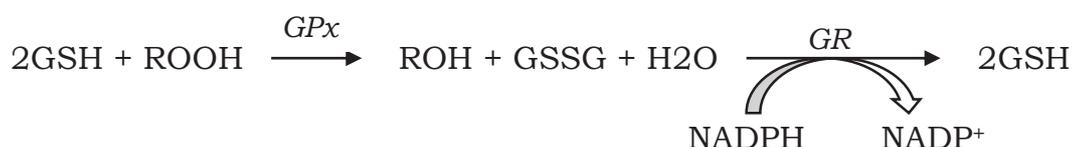
##### *2.4.1.2.1-La superoxyde dismutase*

Les globules rouges ont servi pour la détermination de l'activité de la SOD avec le kit Ransod SD-125 (Randox laboratories LTD, UK). Il s'agit de la méthode spectrophotométrique permettant de mesurer la SOD de façon indirecte en utilisant le système xanthine/xanthine oxydase et le 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophénol)-5-phenyltétrazolium chlorure (INT) (McCord et Fridovich, 1969). Le système xanthine/xanthine oxydase produit le radical superoxyde en excès. La SOD des érythrocytes, réagit avec une quantité de radicaux superoxydes et les autres radicaux superoxydes, en excès, vont réagir avec l'INT pour former une coloration rouge dont l'intensité est mesurée à la longueur d'onde de 505 nm.



#### 2.4.1.2.2-La glutathion peroxydase

L'activité de la GPx a été déterminée selon la méthode de Paglia et Valentine (1967) avec le kit Ransel RS-505 (Randox laboratories LTD, UK). La GPx catalyse l'oxydation du glutathion (GSH) par l'hydroperoxyde de cumène (ROOH). En présence de la glutathion réductase (GR) et de NADPH, le glutathion oxydé (GSSG) est réduit avec oxydation du NADPH en NADP<sup>+</sup>. La diminution de l'absorbance est mesurée à 340 nm.



#### 2.4.1.2.3-La 15-F<sub>2t</sub>-isoprostane

La concentration plasmatique de la 15-F<sub>2t</sub>-isoprostane a été dosée sur du plasma contenant 0,005 % de BHT. Avant analyse, les isoprostanes ont été purifiées par extraction, avec des colonnes Bond Elut Certify II (Agilent), selon la méthode d'extraction en phase solide (SPE) décrite par Morrow *et al.*, (1990).

Après extraction, les isoprostanes ont été quantifiées par spectrométrie de masse en mode ionisation chimique négative selon Morrow et Roberts (1999) sur le GC-MS ISQ de marque Thermo avec une colonne ZB-5MSplus (30m\*025 mm, 0.25µM) de chez Phenomenex. La 15-F<sub>2t</sub>-Isoprostane d4 a été utilisée comme étalon interne.

#### 2.4.1.2.4-Les groupements thiols

Les groupements thiols (SH) ont été dosés selon la méthode de Jocelyn (1987). Il s'agit d'une méthode colorimétrique basée sur la réduction de l'acide 5,5' -dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman en acide 5-thio (2-nitrobenzoïque) par les SH. Au cours de cette réaction il y a formation d'une coloration jaune dont l'intensité lue à 412 nm, est proportionnelle à la quantité de SH dans la prise d'essai. 10 µL de plasma ont été déposés dans un puits d'une plaque contenant 240 µL du tampon phosphate 20mM/EDTA 1mM (pH 8) avec lecture au spectrophotomètre en absence puis en présence du réactif d'Ellman après 15 minutes d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Une gamme étalon d'albumine, de 0 à 20 mg/mL, a été réalisée. La quantité de groupements SH a été calculée en considérant le poids moléculaire de l'albumine et son contenu en SH (0,66 mole de SH par mole d'albumine). La concentration en SH a été exprimée en µmol SH/mL.

#### 2.4.1.2.5-Les TBARS

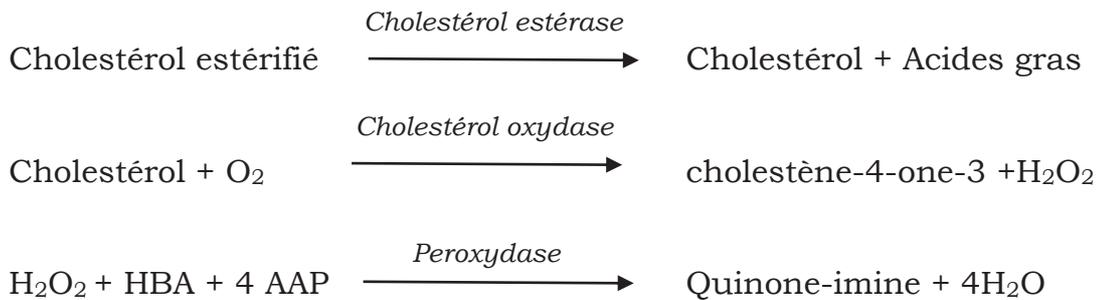
Les TBARS plasmatiques ont été dosés selon la méthode de Janero (1990). La technique est basée sur la détection fluorimétrique du complexe MDA-acide thiobarbiturique (MDA-TBA). En effet, le MDA et les autres produits aldéhydiques réagissent avec le TBA en condition acide (pH 2.0) et à température élevée, pour former un complexe de couleur rose (MDA-TBA) qui a une absorption maximum à 532 nm (Sunderman *et al.*, 1985). Les bruits de fond sont corrigés à 508 et 556 nm, selon la correction d'Allen (1950).

200 µL de plasma a été ajouté à une solution composée de 154 mM de KCL, de 1% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et de 30 mM de TBA. Le mélange a été incubé à 100°C pendant 1 heure puis refroidi dans la glace. Après refroidissement, 1,5 mL de butanol ont été ajoutés au mélange, agité pendant 30 secondes puis centrifugé à 3500 g pendant 15 minutes à température ambiante. Le surnageant de couleur rose a été utilisé pour doser les TBARS par fluorimétrie à 553 nm. Les résultats ont été exprimés en nmol/mL.

#### 2.4.1.3-Les paramètres du bilan lipidique

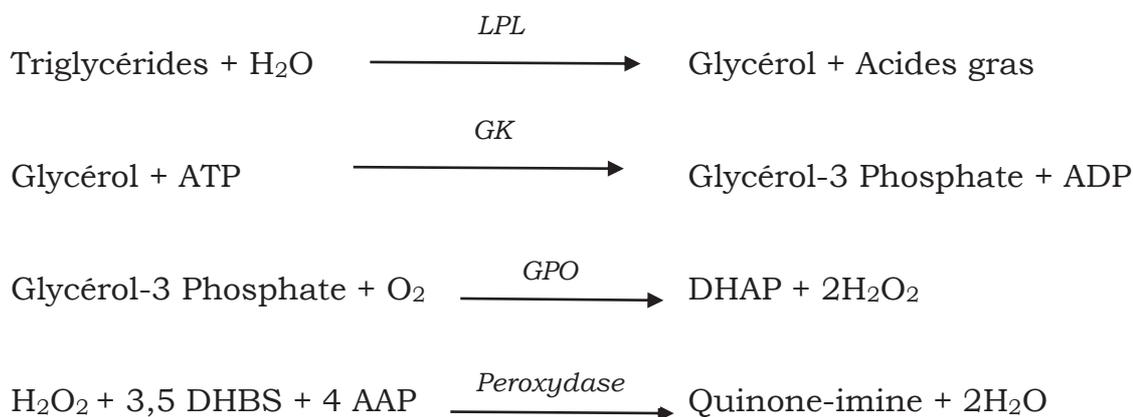
#### 2.4.1.3.1-Le cholestérol total

La cholestérolémie totale a été déterminée selon la méthode d'Allain *et al.*, (1974) avec le réactif CHOL2 (Cobas, Roche, France). Il s'agit d'une technique colorimétrique enzymatique en point final. En présence de la cholestérol estérase, le cholestérol estérifié est hydrolysé en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol formé est oxydé par la cholestérol oxydase pour former le cholestène-4-one-3 et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Sous la catalyse d'une peroxydase, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formé réagit avec l'acide hydrobenzoïque (HBA) et la 4-aminoantipyrine (4 AAP) pour former un chromogène de couleur rouge (quinone-imine) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 512 nm.



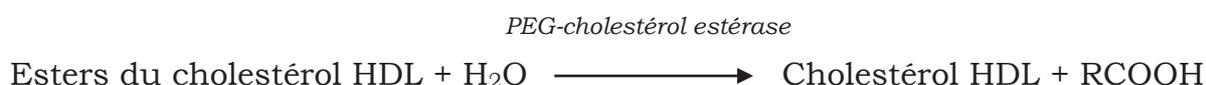
#### 2.4.1.3.2-Les triglycérides

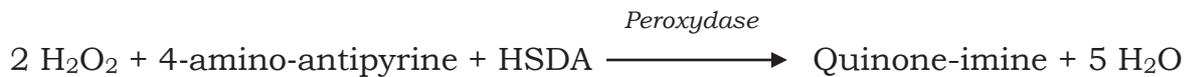
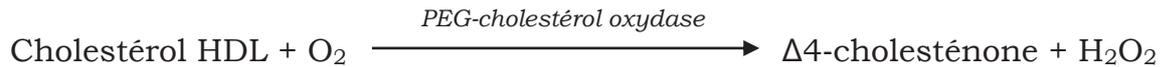
Les triglycérides plasmatiques ont été dosés selon la méthode de Fossati et Prencipe (1982) avec le réactif TRIGB (Cobas, Roche, France). Cette technique colorimétrique enzymatique en point final est basée sur le principe suivant. Sous la catalyse de la lipoprotéine lipase (LPL) les triglycérides sont hydrolysés en glycérols et en acides gras libres. En présence de la glycérol kinase (GK) et d'ATP, le glycérol est phosphorylé en glycérol-3-phosphate (G3P) avec formation d'ADP. Le G3P est oxydé en dihydroxy-acétone phosphate (DHAP) en présence de la glycérol-3 phosphate oxydase (GPO) avec formation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sous l'action d'une peroxydase, l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec la 4-AAP et le 3,5-dichloro-2-hydrxybenzène (DHBS) pour former un chromogène coloré (quinone-imine) dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de triglycérides dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 505 nm.



#### 2.4.1.3.3-Le cholestérol HDL

La détermination du cholestérol-HDL s'est faite selon la méthode directe (Sugiuchi *et al.*, 1995) avec le réactif HDLC3 (Cobas, Roche, France). Il s'agit d'un test colorimétrique enzymatique en phase homogène. En présence d'ions magnésium, le sulfate de dextran forme de manière sélective des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons, ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par le polyéthylène glycol (PEG). La concentration en cholestérol des HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol estérase et de cholestérol oxydase modifiées par du PEG (40 % env. des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action de la cholestérol estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction catalysée par la cholestérol oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en  $\Delta^4$ -cholesténone avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec la 4-amino-antipyrine et Sodium N-(hydroxy-2 sulfo-3 propyl) diméthoxy-3,5 aniline (HSDA) avec formation d'un dérivé coloré bleu-violet (quinone-imine). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de cholestérol HDL dans le milieu. L'absorbance est lue à 430 nm.

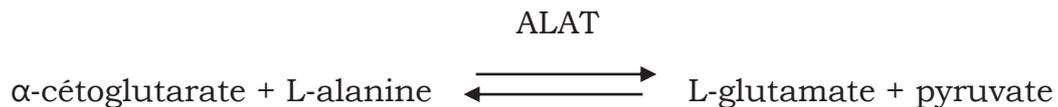




#### 2.4.1.4-Les paramètres du bilan hépatique

##### 2.4.1.4.1-Alanine aminotransférase (ALAT)

L'activité de l'ALAT a été mesurée avec le kit ALT (ALAT/GPT) (Cobas, Roche, France) selon la méthode standardisée de la fédération internationale de chimie clinique (IFCC) décrite par Schumann *et al.*, (2002a). L'ALAT catalyse la réaction d'équilibre suivante :



Le pyruvate formé réagit avec la lactate-déshydrogénase (LDH) pour donner le L-lactate par une réaction d'équilibre.



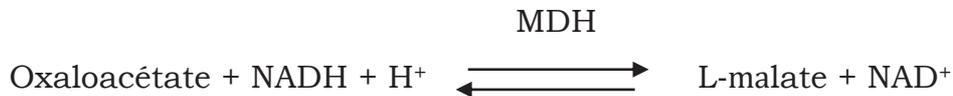
Au cours de cette réaction, le NADH est oxydé en NAD<sup>+</sup>. La vitesse de diminution du NADH, directement proportionnelle à la vitesse de formation du pyruvate et donc à l'activité de l'ALAT, est mesurée par photométrie.

##### 2.4.1.4.2-Aspartate aminotransférase (ASAT)

L'activité de l'ASAT a été mesurée avec le kit AST (ASAT/GOT) (Cobas, Roche, France) selon la méthode standardisée de l'IFCC décrite par Schumann *et al.*, (2002b). L'ASAT catalyse la réaction d'équilibre suivante :



L'oxaloacétate formé réagit avec la malate-déshydrogénase (MDH) pour donner le L-malate par une réaction d'équilibre.



Au cours de cette réaction, le NADH est oxydé en NAD<sup>+</sup>. La vitesse de diminution du NADH, directement proportionnelle à la vitesse de formation de l'oxaloacétate et donc à l'activité de l'ASAT, est mesurée par photométrie.

#### *2.4.1.5-L'interleukine-6 (IL-6)*

La concentration plasmatique de l'IL-6, cytokine pro-inflammatoire, a été déterminée par la technique ELISA en sandwich à l'aide d'un kit commercial (Rat IL-6 ELISA kit, novex life technologies, France). L'absorbance a été lue à 450 nm et une courbe d'étalonnage a été déterminée avec des standards de concentrations connues. Les résultats sont exprimés en pg/ml.

### **2.4.2-Le foie**

Les analyses effectuées sur le foie ont été faites en collaboration avec le laboratoire de Dynamique Musculaire et Métabolisme au sein de l'équipe d'Endocrinologie mitochondriale et nutritionnelle de l'INRA de Montpellier.

#### *2.4.2.1-Les paramètres du stress oxydant*

Les paramètres du stress oxydant ont été déterminés dans les homogénats de foie. 100 mg de foie de chaque rat ont été broyés dans 1 ml de tampon de broyage (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:100mM, DTT: 1mM, EDTA: 2mM, pH 7,4) avec l'Ultra-turax dans de la glace pendant 20 secondes. Après une centrifugation à 3000 g pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant (homogénat) a été utilisé pour les différents dosages.

La concentration des protéines totales des homogénats de foie, déterminée par la méthode de Bradford (1976), a été utilisée pour exprimer les différents résultats par milligrammes de protéines.

#### 2.4.2.1.1-La superoxyde dismutase

L'activité de la SOD a été déterminée par spectrométrie selon la méthode de Marklund (1976). Le principe du dosage est basé sur une compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol par l' $O_2^{\cdot-}$  et la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$  par la SOD. Pour ce dosage, 20  $\mu$ L d'homogénat de foie dilué au 1/26<sup>e</sup> a été déposé dans une cuve en quartz contenant 500  $\mu$ L de tampon Tris-acide cacodylique (50 mM de Tris, pH 8,2) contenant 1 mM d'acide acétique diethylenetriaminepenta (DTPA) et 6 mM de pyrogollol. La cinétique a été suivie à 320 nm pendant 60 secondes à 30°C. L'activité de la SOD a été exprimée en U SOD/mg de protéines.

#### 2.4.2.1.2-La glutathion peroxydase

L'activité de la GPx a été déterminée par spectrométrie selon la méthode de Flohé et Günzler (1984). 50  $\mu$ L d'homogénat de foie dilué au 1/11<sup>e</sup> a été déposé dans une cuve en quartz contenant 500  $\mu$ L de tampon phosphate (50 mM) contenant du DTPA (0,5 mM, pH 7), du GSH (100 mM), de la GR (5 U/mL), du NADPH (2,4 mM) et de l'hydroperoxyde de tert-butyle (tBHP) (50 mM). La cinétique a été suivie à 340 nm pendant 60 secondes à 30°C. L'activité de la GPx a été exprimée en mU GPx/mg protéines, sachant qu'une unité de GPx correspond à la quantité qui oxyde 1  $\mu$ mol de GSH (0,5  $\mu$ mol de NADPH) par minute.

#### 2.4.2.1.3-La Catalase

La détermination de l'activité de la catalase est basée sur sa capacité à dégrader le peroxyde d'hydrogène (Beers et Sizer, 1952). 20  $\mu$ L d'homogénat de foie dilué au 1/51<sup>e</sup> a été déposé dans une cuve en quartz contenant 1000  $\mu$ L de tampon phosphate (50 Mm, pH 7) et une solution d' $H_2O_2$  (30 mM). La diminution de l'absorbance qui correspond à la disparition de l' $H_2O_2$ , a été suivie pendant 60 secondes à 240 nm. L'activité de la catalase a été exprimée en U CAT/mg protéines.

#### 2.4.2.1.4-Les groupements thiols

Les groupements thiols (SH) ont été dosés selon la méthode de Jocelyn (1987). Il s'agit d'une méthode colorimétrique basée sur la réduction de l'acide 5,5' -dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman en acide 5-thio (2-nitrobenzoïque) par les SH. Au cours de cette réaction il y a formation d'une coloration jaune dont l'intensité lue à 412 nm, est proportionnelle à la quantité de SH dans la prise d'essai. 25 µL d'homogénat de foie dilué au 1/20<sup>e</sup> a été déposé dans une cuve en quartz contenant du tampon phosphate 20mM/EDTA 1mM (pH 8) avec lecture au spectrophotomètre en absence puis en présence du réactif d'Ellman après 15 minutes d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Une gamme étalon d'albumine, de 0 à 20 mg/mL, a été réalisée. La quantité de groupements SH a été calculée en considérant le poids moléculaire de l'albumine et son contenu en SH (0,66 mole de SH par mole d'albumine). La concentration en SH a été exprimée en nmol SH/mg de protéine.

#### 2.4.2.1.5-Le rapport GSH/GSSG

Les glutathions réduit (GSH) et oxydé (GSSG) ont été dosés selon la méthode de Griffith (1980). Le glutathion présent dans l'échantillon réagit rapidement avec l'acide DTNB afin de donner un composé jaune qui absorbe à 412nm. En ajoutant au milieu réactionnel la GR, on recycle le glutathion présent dans l'échantillon d'une manière continue. La présence de GR en excès permet au GSH de se trouver toujours sous la forme réduite dont va dépendre la vitesse de la formation du composé jaune produit dans cette réaction. Dans ces conditions c'est le pool total de glutathion (GSH+GSSG) qui est mesuré, car la GR va réduire le GSSG présent dans l'échantillon en GSH pour participer à la formation de la couleur jaune. La détermination exclusive de GSSG est réalisée en dérivant préalablement GSH avec de la 2-vinylpyridine.

Les glutathions réduit et oxydé ont été dosés séparément avant de faire le rapport GSH/GSSG. 400 µL d'homogénat de foie ont été ajoutés à 400 µL d'acide métaphosphorique 12 %, le mélange a été centrifugé à 3000 tours /min pendant 10 minutes à 4°C et le surnageant a servi au dosage des deux formes

de glutathion. 50  $\mu\text{L}$  d'un mélange composé au préalable de 20  $\mu\text{L}$  de surnageant, 180  $\mu\text{L}$  d'une solution de tampon phosphate 125 mM, pH 7.5 et de la soude 5N ont été utilisés pour le dosage de GSH. Le dosage de GSSG s'est fait avec 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange composé de 200  $\mu\text{L}$  de surnageant, 360  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate 125 mM, 200  $\mu\text{L}$  d'acide métaphosphorique 6 %, 40  $\mu\text{L}$  de soude 5N et 16  $\mu\text{L}$  de 2-vinylpyridine; après avoir été vortexé pendant 15 secondes et laissé à la température ambiante pendant 1 heure.

#### 2.4.2.1.6-Les TBARS

Les TBARS hépatiques ont été dosés selon la méthode de Janero (1990). La technique est basée sur la détection spectrophotométrique du complexe MDA-acide thiobarbiturique (MDA-TBA). En effet, le MDA et les autres produits aldéhydiques réagissent avec le TBA en condition acide (pH 2) et à température élevée, pour former un complexe de couleur rose (MDA-TBA) qui a une absorption maximum à 532 nm (Sunderman *et al.*, 1985). Les bruits de fond sont corrigés à 508 et 556 nm, selon la correction d'Allen (1950).

200  $\mu\text{L}$  d'homogénat de foie a été ajouté à une solution composée de 154 mM de KCL, de 1 % de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  et de 30 mM de TBA. Le mélange a été incubé à 100°C pendant 1 heure puis refroidi dans la glace. Après refroidissement, 2 mL de butanol ont été ajoutés au mélange, agité pendant 30 secondes puis centrifugé à 3500 g pendant 15 minutes à température ambiante. Le surnageant de couleur rose a été utilisé pour doser les TBARS par spectrophotométrie à 535 nm. Les résultats ont été exprimés en nmol de TBARS / g de tissu frais.

#### 2.4.2.1.7-La NADPH oxydase

Un morceau de foie (100 mg pour 1 mL de tampon) est broyé dans du tampon KREBS à l'aide de l'ultra-turax dans de la glace pendant 20 secondes. L'homogénat obtenu est centrifugé à 4000 g à 4°C pendant 10 minutes et est reparti en aliquotes dont certains seront dilués au 1/50<sup>e</sup> pour le dosage des protéines. Les homogénats ont été conservés à -20°C.

L'activité de la NADPH oxydase, estimée par la mesure de la production d'anion superoxyde, a été déterminée par la méthode de chimiluminescence à

la lucigénine. Grâce à la lucigénine qui est une sonde bioluminescente spécifique de l'anion superoxyde, cette méthode mesure la production totale d'anion superoxyde par la NADPH oxydase. En présence d'anion superoxyde la lucigénine passe d'un état fondamental à un état excité. Lors de son retour à l'état fondamental, elle émet des photons dont la quantité est proportionnelle à celle de l'anion superoxyde. L'intensité de la luminescence (RLU, Relative Lights Units) est enregistrée par un luminomètre (Perkin Elmer Wallac, Victor, Turku, Finland).

Dans une microplaque de 96 puits, l'homogénat de foie est mis en présence de NADPH (100  $\mu$ M), substrat de la NADPH oxydase, et de lucigénine (10  $\mu$ M). La production d'anion superoxyde est enregistrée pendant 30 minutes. Afin d'évaluer la production basale d'anion superoxyde et de la soustraire de la mesure réalisée, cette production est également mesurée dans un puits témoin négatif ne contenant pas de NADPH. La production d'un témoin positif pour lequel est ajouté le DPI (diphényliodonium), inhibiteur de la NADPH oxydase, est également mesurée. Les résultats obtenus sont rapportés à la concentration en protéines du tissu concerné et exprimés en RLU/ $\mu$ g de protéines.

#### 2.4.2.2-Les paramètres de la fonction mitochondriale

##### 2.4.2.2.1-Le potentiel de membrane

Le potentiel de membrane a été mesuré sur des mitochondries de foie frais. La procédure d'isolement des mitochondries repose sur une technique de fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle décrite par Frezza *et al.*, (2007). Environ 2 g de foie ont été broyés à froid dans une solution tampon Tris (10 mM, pH 7,4) à base de saccharose (0,25 M), à l'aide d'un potter verre-teflon à 600 rpm. La solution obtenue a été centrifugée à 2500 rpm pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant a été re-centrifugé à 8500 rpm pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant obtenu a été rejeté et le culot, riche en mitochondries, a été remis en suspension dans 2 mL de solution tampon à base de saccharose (0,25 M) par gramme de foie.

Cet homogénat de mitochondries a servi à la mesure du potentiel de membrane selon la méthode de Baracca *et al.*, (2003). Le suivi du potentiel de

membrane s'est fait grâce à une sonde fluorescente, la rhodamine (RH 123), avec le fluorimètre LS45 Perkin-Elmer équipé d'un système d'agitation dans du tampon MiRO5 (Mitochondrial Respiration Medium) constitué de EGTA 0,5 mM, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 3 mM, K-lactobionate 60 mM, Taurine 20 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 mM, HEPES 20 mM, sucrose 110 mM et de la BSA délipidée à 1 g/L. La RH 123 est une sonde amphiphile portant des charges positives délocalisées qui franchit la membrane de la mitochondrie. Sa forme protonée est captée dans l'intérieur électronégatif de la mitochondrie.

La fluorescence de la RH 123 a été mesurée à 503 nm (excitation) et 527 nm (émission) sous agitation continue dans une cuve en quartz. Les variations du potentiel de membrane mitochondriale ( $\Delta\Psi$ ) ont été évaluées en mesurant l'extinction de la fluorescence à différentes étapes successives i) avec la RH 123 seule (2  $\mu$ M) dans du tampon MiRO5, ii) en présence de mitochondries de foie (0,25 mg de protéines), iii) après ajout des substrats glutamate/malate/succinate (2,5/5/5 mM), iv) après ajout de l'ADP (0,5 mM), v) après ajout de l'oligomycine (2  $\mu$ M), vi) et enfin en présence de l'inhibiteur CCCP (2  $\mu$ M) dans un mélange réactionnel de 3 mL.

#### 2.4.2.2.2-La citrate synthase

La citrate synthase est la première enzyme du cycle de Krebs, elle catalyse la réaction suivante :



La mesure de l'apparition de groupe thiol (SH) libre lors de la formation de CoA-SH selon la technique décrite par Srere (1969) permet de mesurer l'activité de la citrate synthase. En effet, l'acide 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoïque) (DTNB ou réactif de Ellman) réagit avec les groupements thiols (SH) du CoA-SH formé et forme du CoA-TNB et de l'acide thionitrobenzoïque (TNB) selon la réaction suivante :



Le TNB est un composé jaune qui absorbe la lumière à 412 nm. La cinétique est suivie pendant 1 minute à 412 nm, l'augmentation de l'absorbance est proportionnelle à l'activité de la citrate synthase. Les résultats ont été exprimés en mU/mg de protéine.

#### 2.4.2.3-Les complexes de la chaîne respiratoire

##### 2.4.2.3.1-La NADH ubiquinone réductase (complexe I)

L'activité de la NADH ubiquinone réductase a été mesurée selon la méthode de Janssen *et al.*, (2007). Les électrons produits lors de l'oxydation du NADH réduisent l'ubiquinone en ubiquinol. Ce dernier réduit le 2,6 - dichlorophénolindophénol (2,6-DCPIP), qui est un composé chimique de couleur bleue. L'activité du complexe I est mesurée à 37°C en suivant la réduction du DCPIP par le NADH à 600 nm.

100 µL d'homogénat de foie dilué au 1/21<sup>e</sup>, dans du tampon phosphate 25 mM, a été ajouté à 850 µL d'un mélange réactionnel contenant du décyubiquinone, du DCPIP, de l'antimycine A. Le tout a été incubé pendant 2 minutes à 37°C avant d'ajouter 40 µL de NADH 5 mM et faire une première lecture cinétique de la DO à 600 nm pendant 45 secondes. Après cette lecture, 10 µL de roténone 200 µM ont été ajoutés au mélange réactionnel suivi d'une deuxième lecture cinétique de la DO à 600 nm pendant 45 secondes. L'addition de la roténone permet de soustraire la dérive liée à l'oxydation du NADH non spécifique à l'activité de la NADH ubiquinone réductase. Les résultats ont été exprimés en mU/mg de protéine.

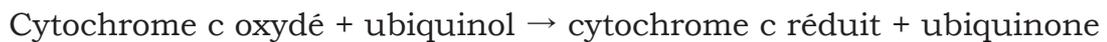
##### 2.4.2.3.2-La succinate ubiquinone réductase (complexe II)

L'activité de la succinate ubiquinone réductase a été mesurée selon la méthode décrite par James *et al.*, (1996). Les électrons produits lors de l'oxydation du FADH<sub>2</sub> par la succinate ubiquinone réductase, réduisent l'ubiquinone en ubiquinol. Ce dernier réduit le DCPIP, qui est un composé de couleur bleue qui absorbe à 600 nm. Au fur et à mesure qu'il est réduit, le DCPIP perd sa couleur bleue et n'absorbe plus la lumière. La détermination de l'activité du complexe II a consisté à suivre la diminution de l'absorbance du DCPIP à 600 nm pendant 2 minutes à 37°C en présence d'inhibiteurs des

autres complexes de la chaîne respiratoire (antimycine A, roténone et KCN). Les résultats ont été exprimés en mU/mg de protéine.

#### 2.4.2.3.3-L'ubiquinol-cytochrome c réductase (complexe III)

La technique de détermination de l'activité de l'ubiquinol-cytochrome c réductase a été adaptée à partir de celle décrite par Rustin *et al.*, (1993). Le complexe III catalyse la réaction suivante :



Le cytochrome c réduit formé entraîne une augmentation de l'absorbance à 550 nm, qui est proportionnelle à l'activité du complexe III. La mesure de l'activité du complexe III a consisté à suivre l'augmentation de l'absorbance du cytochrome c réduit à 550 nm pendant 90 secondes à 37°C en présence de cytochrome c, de succinate, de roténone et KCN. Les résultats ont été exprimés en mU/mg de protéine.

#### 2.4.2.3.4-La cytochrome c oxydase (complexe IV)

La mesure de l'activité de la cytochrome c oxydase repose sur sa capacité à oxyder le cytochrome c réduit (Wharton et Tzagoloff, 1967). La cinétique de disparition du cytochrome c réduit à 550 nm, suivie par spectrophotométrie, reflète l'activité de la cytochrome c oxydase. La mesure de l'activité du complexe IV a consisté à suivre la cinétique de disparition du cytochrome c réduit à 550 nm pendant 30 secondes à 37°C. Les résultats ont été exprimés en mU/mg de protéine.

#### 2.4.2.4-Les paramètres lipidiques

##### 2.4.2.4.1-Extraction des lipides

L'extraction des lipides totaux s'est faite selon la technique de Folch (Folch *et al.*, 1957). Environ 100 mg de foie est broyé à l'aide d'un ultra-turax à froid dans un mélange contenant 1 volume de NaCl (9 g/L) et 4 volumes du mélange chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) /méthanol (CH<sub>3</sub>OH). Le mélange

CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (2:1, v/v) contient du 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluène à 50 mg/L. La centrifugation de l'homogénat obtenu, à 3000 g pendant 20 minutes à 25°C, donne deux phases séparées par un disque protéique. La phase inférieure (phase chloroformique contenant les lipides) est récupérée et mélangée à 2 mL de NaCl (9 g/L). Le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes à 25°C. La phase inférieure récupérée est évaporée sous azote et le résidu est repris par 2 mL du mélange CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (2:1, v/v) puis stockée à -20°C pour les différents dosages.

L'extraction des lipides des mitochondries du foie s'est faite selon la même technique. Dans ce cas précis la solution de travail était composée de 1 mL d'homogénat de mitochondrie de foie plus 4 mL du mélange CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (2:1, v/v).

#### 2.4.2.4.2-Séparation et quantification des lipides neutres du foie

Les Lipides neutres sont séparés en fonction de leur polarité par chromatographie sur couche mince (CCM) dans un but de purification selon la technique d'Aoun *et al.*, (2012). Les plaques de CCM utilisées sont un support en verre avec une couche mince et uniforme de gel de silice constituant la phase stationnaire. La phase mobile est un mélange de polarités différentes qui dépend de celles des lipides à séparer le long de la phase stationnaire. Les lipides neutres sont séparés par des solvants moyennement polaires. Ils sont quantifiés contre une gamme étalon après révélation par du sulfate de cuivre dans de l'acide phosphorique après carbonisation à 180°C pendant 20 min.

Les plaques de verre (Silica Gel 60 HPTLC plate 20 cm x 10 cm, Merck Chimie SAS, France) sont trempées dans l'acide borique 1,5 % pour une nuit, puis séchées pendant 60 minutes à 120°C. 10 µL d'extrait lipidique de foie est déposé à l'aide du Linomat ATS 4 (Camag, Chromacim SAS, Moirans, France) sur une largeur de 4 mm par bande de dépôt. Une solution étalon contenant les lipides neutres (TG, AGL, cholestérol libre, cholestérol estérifié, PL) est déposée simultanément, à des volumes différents (0,5; 1; 2; 5; 7,5 et 10 µL), afin d'identifier et quantifier les lipides séparés par chromatographie. La plaque est déposée verticalement dans une première cuve de migration

contenant 70 ml de l'éluant le plus polaire (3 ml de méthanol + 52 ml de pentane + 45 ml de chloroforme). Après 60 mm de migration, la plaque est retirée et séchée sous la hotte. Elle est ensuite déposée verticalement dans une deuxième cuve de migration contenant 70 ml de l'éluant le moins polaire (3 ml d'éther éthylique + 97 ml de pentane). Après 67 mm de migration, la plaque est retirée et séchée sous hotte. Afin de révéler les différents dépôts, la plaque est trempée dans le réactif au sulfate de cuivre contenu dans la cuve automatique, puis séchée sous hotte et mise au four à 180°C pendant 20 minutes. Après refroidissement à la température ambiante, on obtient le résultat ci-dessous (*figure 26*).

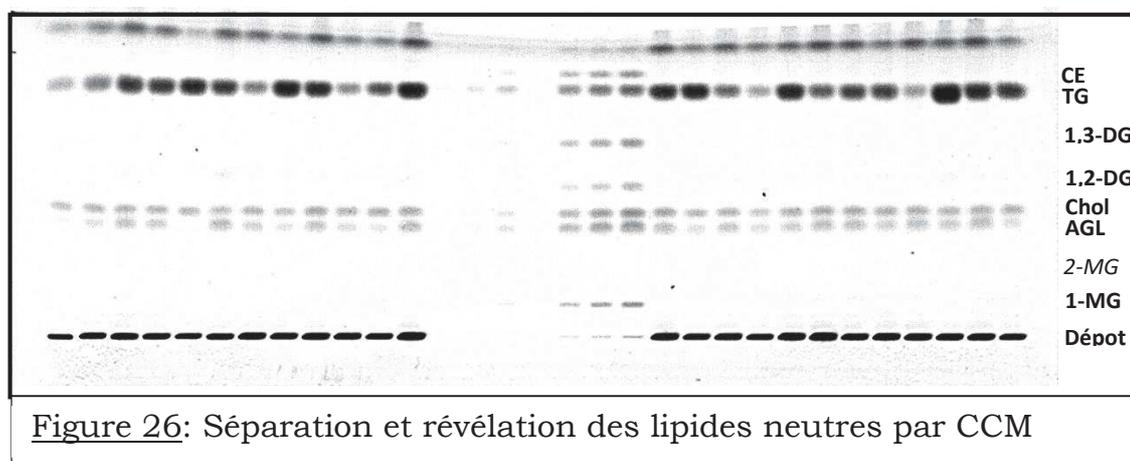
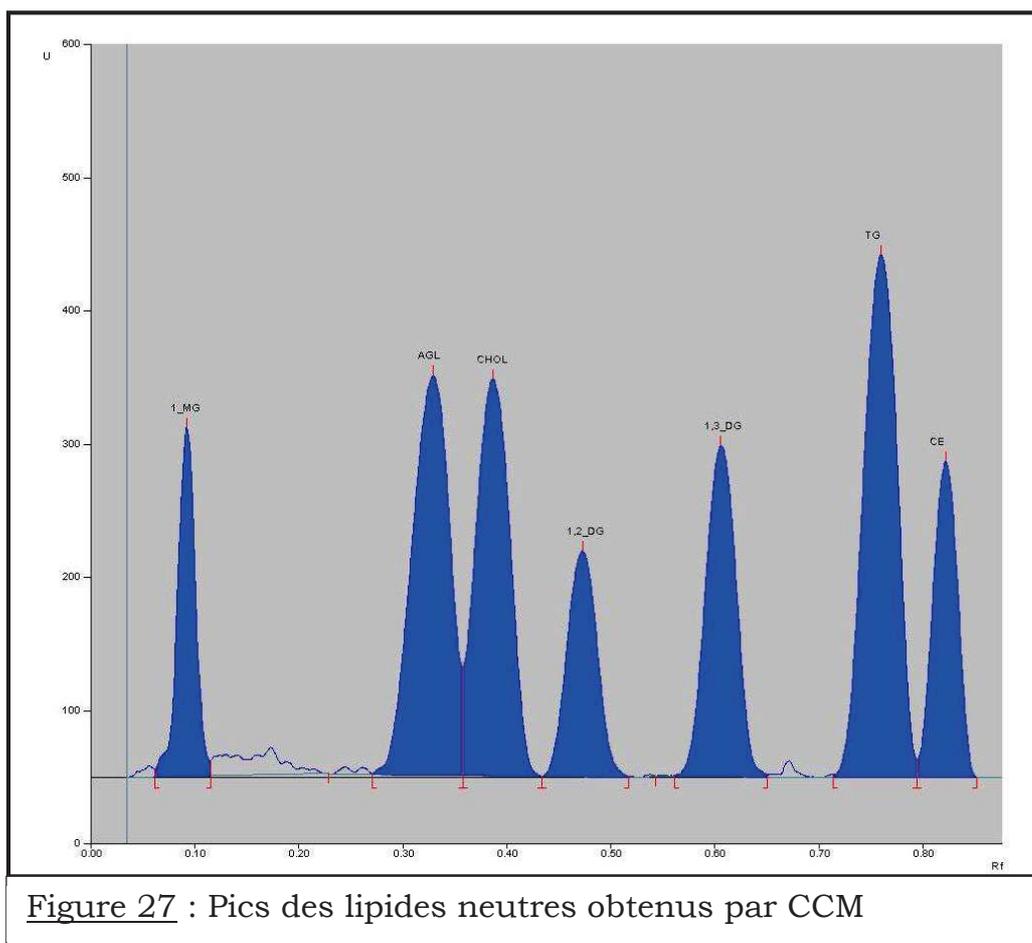


Figure 26: Séparation et révélation des lipides neutres par CCM

CE : Cholestérol estérifié ; TG : triglycérides ; 1,3-DG : 1,3-diglycéride ; 1,2-DG : 1, 2-diglycéride ; Chol : Cholestérol ; AGL : Acide gras libre; 2-MG : 2-Monoglycéride ; 1-MG : 1-Monoglycéride.

Après révélation, la plaque est scannée à 10 mm/s (550 nm, 3.00x0.45 mm Micro, Mode light) avec le TLC scanner 3 (Camag, Chromacim SAS, Moirans, France). Grâce à un densitomètre, chaque dépôt sur la plaque est converti en un pic (*figure 27*) dont la surface est proportionnelle à l'intensité de la coloration du dépôt. Les aires des pics sont intégrées dans le logiciel WinCat, la quantité de chaque lipide neutre est évaluée contre la courbe d'étalonnage correspondante.



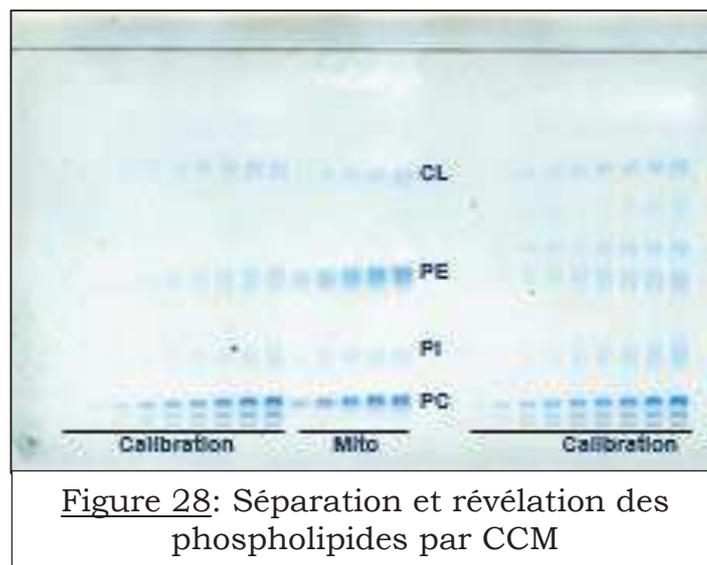
**Figure 27** : Pics des lipides neutres obtenus par CCM

1-MG : 1-Monoglycéride; AGL: Acide gras libre; Chol : Cholestérol; 1,2-DG : 1, 2-diglycéride; 1,3-DG : 1,3-diglycéride; TG : Triglycérides; CE : Cholestérol estérifié

#### 2.4.2.4.3-Séparation et quantification des phospholipides (PL) des mitochondries du foie

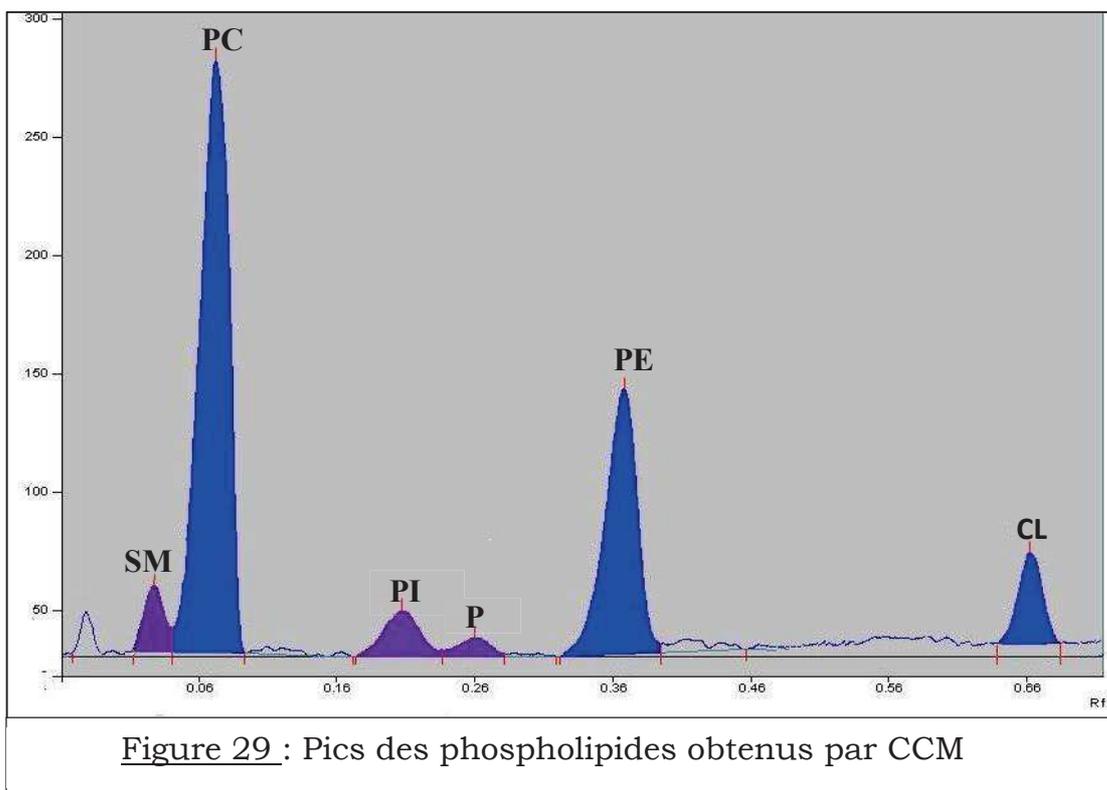
La séparation et la quantification des PL des mitochondries obéissent au même principe que celui des lipides neutres. Les PL sont quantifiés contre une gamme étalon après révélation par un réactif spécifique du phosphore. Les plaques de verre sont trempées dans l'acide borique 2,3 % pendant une nuit, ensuite séchée à 120°C pendant 60 minutes, puis à 55°C. L'équivalent de 4 nmol de PL mitochondriaux de foie est déposé à l'aide du Linomat ATS 4 sur une largeur de 4 mm par bande de dépôt. Une solution étalon contenant les PL (LPC, SM, PC, PI, PS, PE, CL) est déposée simultanément, à des volumes

différents (1; 2; 4; 8 et 10  $\mu$ L), afin d'identifier et quantifier les PL séparés par chromatographie. La plaque est déposée verticalement dans une cuve de migration contenant 70 ml d'un solvant de 15 ml de méthanol, 10 ml d'acide acétique glacial 100 %, 30 ml de pentane et 45 ml de chloroforme. Ce mélange de solvant permet d'entraîner l'ensemble des lipides neutres au niveau du front de solvant et de bien séparer les différents PL les uns des autres. Après 20 minutes de migration, la plaque est retirée et séchée sous la hotte. Afin de révéler les différents dépôts, la plaque est trempée dans le réactif SIGMA au bleu de molybdène contenu dans la cuve automatique. Ensuite laisser sécher la plaque pendant 15 minutes à température ambiante puis la mettre au four à 55°C pendant 3 minutes. Après refroidissement à la température ambiante, on obtient le résultat ci-dessous (*figure 28*).



CL: Cardiolipine, PI: Phosphatidylinositol, PC: Phosphatidylcholine,  
PE: Phosphatidylethanolamine

Après révélation, la plaque est scannée rapidement à 10 mm/s pendant 3 minutes puis lentement à 1 mm/s pendant 30 minutes (715 nm, 3.00x0.45 mm Micro, Mode light) avec le TLC scanner 3. Grâce à un densitomètre, chaque dépôt sur la plaque est converti en un pique (*figure 29*) dont la surface est proportionnelle à l'intensité de la coloration du dépôt. Les aires des pics sont intégrées dans le logiciel WinCat, la quantité de chaque phospholipide est évaluée contre la courbe d'étalonnage correspondante.



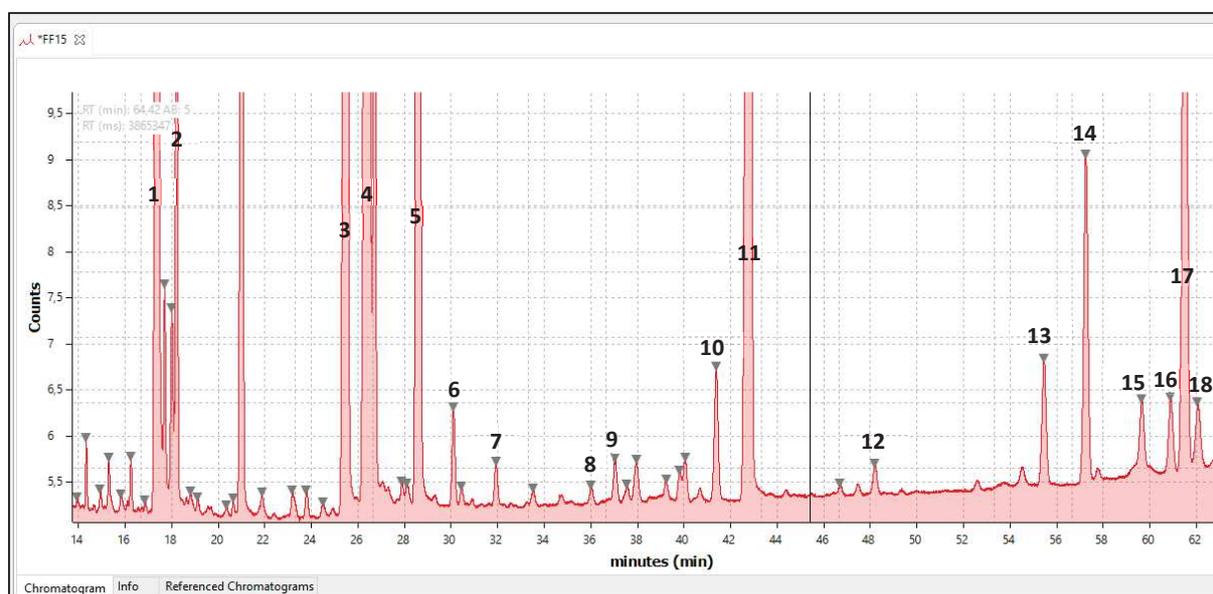
SM: Sphingomyéline, PC: Phosphatidylcholine, PI: Phosphatidylinositol, PS: Phosphatidylsérine, PE: Phosphatidylethanolamine, CL: Cardiolipine

#### 2.4.2.4.4-Quantification des acides gras du foie par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse des acides gras par CPG nécessite leur méthylation afin de les rendre plus stables et plus volatils. Cette méthylation a été réalisée par transestérification en milieu acide selon la technique de Lepage et Roy (1986). 100  $\mu$ L d'extrait lipidique de foie est mélangé à 50  $\mu$ L d'acide heptadécanoïque (C17 :0) qui est le standard interne. Le solvant du mélange est évaporé à sec sous azote et 1 ml du réactif de trans-estérification en milieu acide (méthanol/acide sulfurique; 19/1; v/v) est ajouté en présence de BHT (50  $\mu$ g/l). Les tubes sont bien fermés sous un flux d'azote puis chauffés à 90°C pendant 45 minutes en agitant régulièrement toutes les 10 minutes. Une pincée de bicarbonate de sodium est ajoutée au mélange afin de neutraliser le milieu réactionnel. Les acides gras estérifiés sont extraits en ajoutant 2 ml de pentane. Le mélange est agité au vortex deux fois pendant 30 secondes puis

centrifugé pendant 10 minutes à 3500 tours et à 15°C. La phase supérieure est récupérée, évaporée sous azote, reprise par 500 µl d'isooctane (+BHT à 50 mg/l) et stockée à -20°C pour les analyses en CPG.

1 µl de l'extrait d'acides gras estérifiés est analysé à l'aide d'un chromatographe Focus GC (Thermo Electron Corporation, Thermo Fisher Scientific), équipé d'un injecteur AS-3000. Chauffé à 220°C, l'injecteur rend volatiles les acides gras estérifiés qui sont entraînés par l'hélium. La séparation des acides gras estérifiés sur la colonne capillaire (Varian CPsil88) s'est faite en fonction de leur point d'ébullition et de leur polarité respective. Les différents composés élués ont été détectés à la sortie de la colonne grâce à un détecteur à ionisation de flamme dont la température est fixée à 220°C. Les esters méthyliques ont été identifiés (*figure 30*) en comparant leur temps de rétention avec celui de leurs standards commerciaux injectés dans les mêmes conditions. Les fractions ont été quantifiées grâce à un standard interne, l'acide heptadécanoïque, ajouté en quantité connue lors de la trans-estérification.



**Figure 30** : Profil chromatographique des acides gras du foie d'un rat nourrit avec de l'huile de palme rouge

**1**= Acide palmitique (C16:0), **2** = Acide Palmitoléique (C16:1n-7), **3** = Acide stéarique (C18:0), **4** = Acide oléique (C18:1n-9), **5** = Acide linoléique (C18:2n-

6), **6** = Acide  $\gamma$  linoléinique (C18:3n-6), **7** = Acide  $\alpha$  linoléinique (C18:3n-3), **8** = Acide arachidique (C20:0), **9** = Acide éicosénoïque (C20:1n-9), **10** = Acide dihomog- $\gamma$ -linoléinique (C20:3n-6), **11** = Acide arachidonique (C20:4n-6), **12** = Acide béhénique (C22:0), **13** = Acide docosatetraénoïque (C22:4n-6), **14** = Acide docosapentaénoïque (C22:5n-6), **15** = Acide clupanodonique (C22:5n-3), **16** = Acide lignocérique (C24:0), **17** = Acide docosahexaénoïque (C22:6n-3), **18** = Acide nervonique (C24:1n-9)

#### *2.4.2.5-La transcription des gènes d'intérêt*

Les ARN totaux ont été extraits selon le principe de la technique décrite par Chomczynski et Sacchi (1987). Ce procédé est basé sur l'extraction avec le couple phénol-chloroforme. Environ 50 mg de foie ont été broyés à l'aide du FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals) réglé à une vitesse linéaire de  $6\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , dans des tubes à billes (Lysing Matrix D, MP Biomedicals) contenant 1 ml TRIzol (solution de phénol et de guanidine thiocyanate). Deux « run » de 20 s séparés par 5 minutes de refroidissement dans la glace ont été effectués. Après centrifugation des tubes à 10000 g, le surnageant est mis dans un tube contenant 0,2 ml de chloroforme. La phase aqueuse obtenue après centrifugation de ce mélange a été prélevée et les ARN présents dans cette phase ont été précipités par ajout d'isopropanol et centrifugation. Le culot d'ARN obtenu a été lavé à l'éthanol 75 %, séché puis ré-suspendu dans 200  $\mu\text{L}$  d'eau stérile (sans RNase). Pour vérifier l'absence de contaminations, les ARN totaux ont été dosés par spectrophotométrie en mesurant la densité optique (DO) à différentes longueurs d'ondes : 230 nm, 260 nm et 280 nm. Les valeurs des rapports  $\text{DO}_{260}/\text{DO}_{280}$  et  $\text{DO}_{260}/\text{DO}_{230}$  ont confirmé cette absence de contamination. Après vérification de leur intégrité par électrophorèse sur gel d'agarose 1 %, les ARN totaux ont été conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  en attendant la transcription inverse.

Les ARN totaux obtenus ont été retrotranscrits en ADN complémentaire (ADNc) à l'aide du kit Takara (PrimeScript RT Reagent Kit, Takara). 500 ng d'ARN totaux ont subi une première dénaturation à  $65^{\circ}\text{C}$  pendant 5 min pour éliminer les éventuelles structures secondaires qui pourraient diminuer l'action de l'enzyme. Les ARN sont ensuite ajoutés à un milieu réactionnel

contenant l'enzyme (PrimeScript RT Enzyme Mix I) et son tampon additionné d'inhibiteur des ribonucléases, de DTT et de désoxyrinucléotides triphosphates. Une incubation à 37°C pendant 15 min a permis l'élongation des brins d'ADNc. La réaction s'est terminée par une incubation à 85°C durant 3 min afin de dénaturer l'enzyme. Les ADNc obtenus ont été dilués au 1/10<sup>e</sup> et conservés à -80°C en attendant la PCR (Polymerase Chain Reaction).

La PCR a été réalisée à partir de 2,5 µL des ADNc préalablement préparés. Le mélange réactionnel : 0,5 µL d'amorce sens (10 µM), 0,5 µL d'amorce antisens (10 µM), 1,5 µL d'eau Roche, 5 µL de Light Cycler 480 SYBR Green I master (Roche) et 2,5 µL d'ADNc dilué au 1/10<sup>e</sup> sont soumis à une PCR en temps réel à l'aide d'un appareil LC480 (Roche). Chaque échantillon est dosé en duplicate et la concentration initiale d'ADNc est déterminée par rapport à une courbe standard obtenue par différentes dilutions d'un mélange d'ARN rétrotranscrits. L'expression du gène d'intérêt a été ensuite normalisée par rapport à l'expression du gène de référence RPLP0 (60S acidic ribosomal protein P0) dont l'expression n'est pas influencée par les divers traitements.

#### *2.4.2.6-Expression des protéines d'intérêt par western blot*

Les homogénats de foie ont été préparés dans un tampon d'extraction froid contenant Tris-HCl 20 mM, DTT 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA2 mM, Triton X-100 à 1 %, SDS 0,1 %, PMSF 1 mM, cocktail d'antiprotéases et orthovanadate 1 mM. Après centrifugation, la concentration protéique du surnageant a été déterminée par la méthode de Bradford (1976). Cette concentration a permis de déterminer le volume en µL nécessaire afin de déposer une quantité identique de protéines pour chaque échantillon par puits.

Les protéines ont été séparées par migration électrophorétique sous une tension de 100 V à température ambiante pendant 1h30 sur un gel SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) de maillage adapté à la taille de chaque protéine. Les protéines ont ensuite été transférées depuis le gel sur une membrane de nitrocellulose avec une intensité de 150 mA pendant 120 minutes dans une solution tampon (Tris 25 mM, glycine 190 mM, MeOH 20 %) à froid. L'efficacité du transfert a été vérifiée en colorant la

membrane au rouge ponceau. Le blocage des sites de fixation potentiels non utilisés s'est fait en trempant la membrane dans une solution du PBS contenant 5 % de protéines de lait de vache (Regilait® écrémé) pendant 1 heure à la température ambiante. La membrane est ensuite incubée avec un anticorps spécifique dirigé contre la protéine d'intérêt (*tableau 8*), pendant 1 heure à la température ambiante.

Tableau 8: Liste des anticorps primaires utilisés pour les protéines du foie

<b>Anticorps</b>	<b>Dilutions</b>	<b>Origines</b>	<b>Fournisseurs</b>
ACC	1/1000	Lapin	Cell Signaling
pACC	1/500	Souris	Millipore
Akt	1/500	Lapin	Cell Signaling
pAkt	1/500	Lapin	Cell Signaling
CLS	1/1000	Lapin	abcam
CPT1A	1/10000	Souris	abcam
FAS	1/500	Lapin	Cell Signaling
IκB	1/500	Souris	Cell Signaling
NF-κB	1/500	Lapin	Cell Signaling

Après 3 lavages avec une solution de PBS 0,1 % tween 20, la membrane est incubée, pendant 45 minutes à la température ambiante, avec un anticorps secondaire couplé à un fluorochrome dirigé de façon spécifique contre l'anticorps primaire. La membrane est à nouveau rincée 3 fois 5 minutes avec du PBS 0,1% tween 20, puis séchée avec du papier absorbant. L'incubation avec l'anticorps secondaire et les séances de lavage qui suivent se font à l'abri de la lumière. Après séchage, la révélation de la membrane et l'analyse quantitative de la densité des bandes protéiques ont été faite à l'aide de l'appareil Odyssey® Infrared Imaging System.

#### 2.4.2.7-L'histologie

Les échantillons de foie ont été fixés dans un tampon neutre de formaline 10 % puis inclus dans la paraffine. Des coupes de 5 µm ont été réalisées avec un microtome (Leïca RM 2145, Microsystems Nussloch GmbH, Allemagne). Après coloration à l'hématoxyline, les infiltrations macrophagiques ont été mises en évidence par immuno-marquage avec un anticorps anti CD68 (AbD Serotec). Pour la stéatose hépatique, des coupes cryostat de 5 µm de foie congelé à -80°C ont été colorée avec de l'Oil Red-O pour mettre en évidence les dépôts lipidiques. Les images ont été analysées par le logiciel Image J (National Institutes of Health).

### 2.4.3-Le muscle

#### 2.4.3.1-La transcription des gènes d'intérêt

Pour la transcription des gènes d'intérêt du muscle, l'extraction des ARN, la retrotranscription en ADNc et la qPCR ont été réalisées selon le même protocole que dans le foie (*voir méthodes 2.4.2.5*).

#### 2.4.3.2-Expression des protéines d'intérêt par western blot

L'expression des protéines d'intérêt du muscle s'est faite selon le protocole appliqué aux protéines du foie (*voir méthodes 2.4.2.6*). Les anticorps spécifiques dirigés contre les protéines d'intérêt sont listés dans le *tableau 9*.

Tableau 9: Liste des anticorps primaires utilisés pour les protéines du muscle

<b>Anticorps</b>	<b>Dilutions</b>	<b>Origines</b>	<b>Fournisseurs</b>
ACC	1/1000	Lapin	Cell Signaling
pACC	1/500	Souris	Milliporte
Akt	1/500	Lapin	Cell Signaling
pAkt	1/500	Lapin	Cell Signaling
CPT1A	1/10000	Souris	abcam
GLUT4	1/2000	Lapin	abcam
IκB	1/500	Souris	Cell Signaling
NF-κB	1/500	Lapin	Cell Signaling

#### 2.4.4-La réactivité vasculaire de l'aorte

La réactivité vasculaire a été étudiée *ex vivo* sur l'aorte le jour du sacrifice, en réponse à des agonistes ou antagonistes de la contraction artérielle. Après prélèvement, l'aorte thoracique immergée dans une solution de Krebs-Henseleit modifiée (NaCl: 140 mM, KCl: 5 mM, MgCl<sub>2</sub>: 1 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,5 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,5 mM, HEPES: 10 mM, CaCl<sub>2</sub>: 2,5 mM, glucose: 11 mM, pH=7,4) a été nettoyée des tissus conjonctifs et adipeux puis coupée en anneaux de 3-4 mm de long. Pour certains anneaux, l'endothélium a été éliminé par passage d'un cure-dent dans la lumière de l'artère. Les anneaux sont montés entre deux crochets fins métalliques installés dans des cuves de bain d'organe, puis suspendus à des capteurs de forces reliés à un système d'amplification et d'enregistrement des variations de la tension isométrique (IOX, EMKA Technologies).

Chaque cuve contient 5 ml de Krebs oxygéné (95 % d'O<sub>2</sub> et 5 % de CO<sub>2</sub>) et est maintenu à une température de 37°C. Chacun des anneaux est soumis à une tension basale optimale de 2 g puis équilibré pendant une période de 1 heure avec des lavages toutes les 15 minutes. Cette tension basale a été préalablement déterminée selon la méthode des tensions initiales. À la fin de la période d'équilibration, la fonctionnalité de chaque segment artériel est évaluée en réponse à l'addition de phényléphrine (PE, 10<sup>-5</sup> M). L'absence ou la fonctionnalité de l'endothélium est évaluée par l'addition d'acétylcholine (Ach, 10<sup>-6</sup> M) au maximum de la réponse phényléphrine. En présence d'endothélium fonctionnel, l'acétylcholine induit une vasorelaxation. Les anneaux sont ensuite rincés et équilibrés pendant une période de 30 minutes jusqu'au retour de la tension au niveau basal. Les différents protocoles sont ensuite effectués. Des courbes dose-réponses ont été réalisées pour chacune des substances vasoconstrictrices suivantes : phényléphrine (10<sup>-9</sup> à 10<sup>-4</sup>M), l'agent dépolarisant KCl (1 à 80 mM); ou vasorelaxantes: acétylcholine (10<sup>-8</sup> à 10<sup>-5</sup> M), nitroprussiate de sodium (SNP, 10<sup>-9</sup> à 10<sup>-6</sup> M). Les effets relaxants du SNP sont évalués sur des anneaux dé-endothélialisés préalablement contractés avec une dose submaximale de phényléphrine (10<sup>-5</sup> M).

#### **2.4.5-Le tissu adipeux**

Les échantillons de tissu adipeux ont été fixés dans un tampon neutre de formaline 10 % puis inclus dans la paraffine. Des coupes de 5  $\mu$ m ont été réalisées avec un microtome (Leica RM 2145, Microsystems Nussloch GmbH, Allemagne). Les coupes ont été colorées à l'hématoxyline pour voir la structure des cellules. Sur le TAPA (tissu adipeux brun) le pourcentage d'inclusion lipidique a été déterminé et la taille des adipocytes a été mesurée sur le TAPP et le TAE. Les infiltrations macrophagiques ont été mises en évidence dans le TAPP par immuno-marquage avec un anticorps anti CD68 (AbD Serotec). Les images ont été analysées par le logiciel Image J (National Institutes of Health).

#### **2.5-ANALYSES STATISTIQUES**

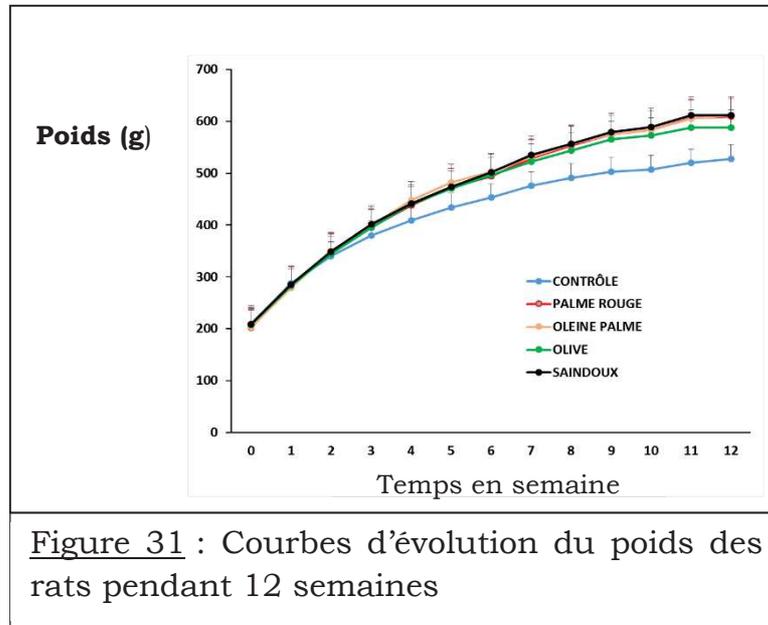
Les valeurs ont été exprimées en moyenne  $\pm$  ESM (Ecart standard à la moyenne). L'analyse statistique est basée sur une ANOVA à deux voies, suivie par un test de comparaisons multiples de Tukey Kramer. Les analyses statistiques des données ont été réalisées avec le logiciel StatView (SAS Institute, Cary, NC, USA). Les différences observées ont été considérées comme significatives pour une valeur de  $p < 0,05$ .

# **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## I-EFFETS DES REGIMES SUR LE POIDS DES ANIMAUX

### 1.1-EVOLUTION DU POIDS DES ANIMAUX

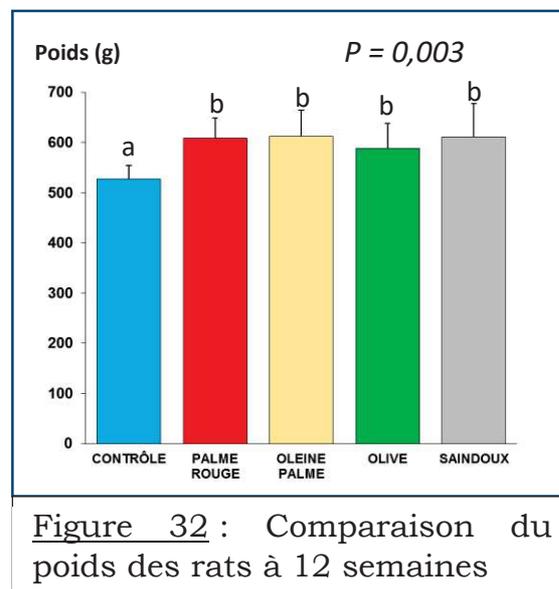
Tous les régimes HFD ont entraîné une prise de poids par rapport au régime contrôle. Cette différence de poids entre les régimes HFD et le contrôle était visible à partir de la troisième semaine d'expérience (*figure 31*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (Ecart Type) (n = 8).

### 1.2-COMPARAISON DU POIDS DES ANIMAUX

Les régimes HFD ont entraîné une augmentation significative du poids final des rats par rapport au contrôle après 12 semaines d'expériences (*figure 32*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

### 1.3-EFFETS DES REGIMES SUR LE POIDS DES ORGANES

Tous les régimes HFD ont entraîné une augmentation significative du poids du rein, du muscle soléaire et du tissu adipeux blanc (TAB) par rapport au contrôle. On observe une augmentation significative du poids du foie avec les régimes oléine de palme et huile d'olive. Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant le poids du muscle gastrocnémien (*tableau 10*).

Tableau 10 : Variation du poids des organes en fonction des régimes

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
Foie	11,3 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	12,4 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	13,8 $\pm$ 0,61 <sup>b</sup>	13,1 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	12,4 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	0,03
TAB	28,6 $\pm$ 2,91 <sup>a</sup>	44,7 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	46,4 $\pm$ 3,15 <sup>b</sup>	42,7 $\pm$ 3,70 <sup>b</sup>	46,0 $\pm$ 4,06 <sup>b</sup>	0,003
Rein	1,21 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,46 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	1,47 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,38 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	1,45 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,004
Gastrocnémien	2,82 $\pm$ 0,05	2,94 $\pm$ 0,08	2,99 $\pm$ 0,09	2,87 $\pm$ 0,09	2,99 $\pm$ 0,06	NS
Soléaire	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,27 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,26 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,26 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,001

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Le poids des organes est exprimé en g. Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. TAB : tissu adipeux blanc.

### 1.4-DISCUSSION

Tous les régimes HFD ont favorisé une prise de poids importante des rats. Cette prise de poids était significative par rapport au régime contrôle ( $p = 0,003$ ). Par contre, aucune différence n'a été observée entre les poids des rats des régimes HFD. De nombreuses études réalisées chez le rat (Buettner *et al.*, 2006; Herlein *et al.*, 2010; Nadal-Casellas *et al.*, 2010; Ciapaite *et al.*, 2011; Flamment *et al.*, 2012; Lionetti *et al.*, 2014) et la souris (Shortreed *et al.*, 2009; Enos *et al.*, 2013; Kahle *et al.*, 2013; Yuzefovych *et al.*, 2013; Franko *et al.*, 2014; Kahle *et al.*, 2014; Nesteruk *et al.*, 2014) ont montré une

importante prise de poids avec les régimes HFD par rapport au régime contrôle. Ces résultats montrent finalement que tout excès de matière grasse, quelle que soit son origine (végétale ou animale) et sa nature (saturée ou insaturée), favorise l'obésité.

Pour apprécier l'effet des huiles sur le développement des organes, le foie, le rein, le muscle et le tissu adipeux ont été pesés. Tous les régimes HFD ont conduit à une augmentation du poids du foie. Cette augmentation était de 10 % pour l'huile de palme rouge et le saindoux, de 22 % pour l'oléine de palme et de 16 % pour l'olive. L'augmentation du poids du foie, induite par l'huile d'olive et l'oléine de palme était significative par rapport aux autres régimes ( $p = 0,03$ ). Dans une étude de 4 semaines réalisée chez des rats Wistar mâles nourris avec des régimes contenant 40 % de matière grasse (huile de palme, huile d'olive, huile de tournesol et le suif), l'oléine de palme et l'huile d'olive ont entraîné une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du poids du foie par rapport aux autres régimes (Portillo *et al.*, 2001). Une autre étude réalisée chez la souris (Arbones-Mainar *et al.*, 2007) a montré une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du poids du foie avec l'huile d'olive par rapport à l'huile de palme. D'autres études ont montré que les régimes HFD, quelle que soit l'origine de la graisse, favorisent l'augmentation du poids du foie chez le rat (Rao *et al.*, 1993; Buettner *et al.*, 2006; Nadal-Casellas *et al.*, 2010; Lionetti *et al.*, 2014; Fouret *et al.*, 2015) et chez la souris (Ferramosca *et al.*, 2008; Kahle *et al.*, 2014; Valenzuela *et al.*, 2015).

Nous avons observé chez les rats de l'étude, une augmentation significative ( $p = 0,003$ ) du poids du tissu adipeux blanc avec les régimes HFD par rapport au contrôle. Cette augmentation était de 56 % pour l'huile de palme rouge, 62 % pour l'oléine de palme, 49 % pour l'huile d'olive et 60 % pour le saindoux. L'augmentation du poids du tissu adipeux blanc par les régimes HFD a été retrouvée par d'autres auteurs (Shortreed *et al.*, 2009; Janovská *et al.*, 2010; Feillet-Coudray *et al.*, 2013, 2014; Kahle *et al.*, 2014; Valenzuela *et al.*, 2015).

Si tous les régimes HFD ont augmenté significativement ( $p = 0,001$ ) le poids du muscle soléaire (fibres lentes) (+22 % pour les huiles de palme et +18 % pour l'olive et le saindoux) par rapport au contrôle, ils n'ont pas eu d'effet

significatif sur le poids du muscle gastrocnémien (fibres rapides). Contrairement à nos résultats, une étude réalisée chez la souris C57B16/J nourrie pendant 12 semaines avec un régime HFD contenant 45 % de matière grasse, a montré une diminution significative ( $p = 0,002$ ) du poids du soléaire avec le régime HFD par rapport au régime contrôle (Collino *et al.*, 2014).

Les régimes HFD ont également favorisé une augmentation significative ( $p = 0,004$ ) du poids du rein par rapport au contrôle. Cette prise de poids du rein était plus importante avec l'oléine de palme (+21 %), l'huile de palme rouge (+20 %) et le saindoux (+19 %). Elle était relativement faible avec l'huile d'olive (+14 %).

Ces résultats montrent que la consommation en excès de l'huile de palme (rouge ou oléine), de l'huile d'olive ou du saindoux favorise l'obésité. Cette prise de poids engendrée par ces différentes matières grasses touche certains organes dont le foie, le rein, le muscle soléaire et le tissu adipeux blanc. Ce dernier a été le plus impacté par les régimes avec une augmentation de poids variant de 49 % à 62 %.

## **II-EFFETS DES REGIMES SUR LE STATUT ANTIOXYDANT ET L'INFLAMMATION**

### **2.1-EFFETS DES REGIMES SUR LE STATUT ANTIOXYDANT**

#### **2.1.1-Le statut antioxydant plasmatique**

Dans le plasma, aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant leurs effets sur les paramètres du stress oxydants (*tableau 11*).

#### **2.1.2-Le statut antioxydant hépatique**

Dans le foie, aucune différence significative n'a été observée entre les régimes pour ce qui est des paramètres du système antioxydant. Par contre, des différences significatives ont été observées au niveau des marqueurs d'oxydation (*tableau 12*). Le régime huile d'olive a entraîné une diminution significative des TBARS par rapport aux régimes huile de palme rouge et saindoux. Le taux de TBARS produit avec le régime oléine de palme était significativement bas par rapport au régime saindoux. Le régime saindoux a

entraîné le plus fort taux de TBARS hépatique, suggérant que la peroxydation lipidique au niveau du foie est plus importante avec ce régime.

Tableau 11 : Variation des paramètres du stress oxydant dans le sang

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
<b>Système antioxydant</b>						
SOD (U/ml)	324 ± 5,3	315 ± 8,7	296 ± 8,8	326 ± 6,6	311 ± 12	NS
GPx (U/ml)	14487±1170	16147±609	15945±1649	13927±478	13972±613	NS
<b>Produits d'oxydation</b>						
Thiols (µmol/mL)	0,112±0,018	0,126±0,013	0,124±0,018	0,111±0,016	0,121±0,017	NS
TBARS (nmol/mL)	5,12 ±0,31	5,13 ±0,21	5,26 ±0,39	4,79 ±0,31	4,91 ±0,21	NS
15-F2t-isoprostane (UA)	0,053±0,006	0,049±0,006	0,044±0,002	0,037±0,006	0,041±0,004	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). SOD: Superoxyde dismutase, GPx: Glutathion peroxydase, TBARS: Substances réactives de l'acide tiobarbiturique. UA: unités arbitraires.

Tableau 12 : Variation des paramètres du stress oxydant dans le foie

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
<b>Système antioxydant</b>						
SOD (U/mg rotéines)	45,6 ± 1,5	48,9 ± 2,6	43,9 ± 1,2	43,9 ± 1,7	43,3 ± 1,5	NS
GPx (U/mg protéines)	6694±178	6920±483	6960±284	6521±254	6850±267	NS
Catalase (U/mg protéines)	725±20	828±28	791±47	787±19	821±28	NS
GSH (mmol/g de poids)	127±5,7	132±2,3	140±6,2	122±6,4	123±4,9	NS
GSH/GSSG	4,91±0,12	4,90±0,10	5,03±0,07	4,96±0,16	4,79±0,17	NS
Nrf2 (ARNm)	1,00±0,86	0,99±0,10	1,09±0,78	1,35±0,14	1,13±0,68	NS
NQO1 (ARNm)	1,00±0,16	0,86±0,17	0,87±0,13	1,36±0,26	1,50±0,18	NS
HO1 (ARNm)	1,00±0,17	1,02±0,16	1,12±0,12	0,99±0,11	0,85±0,75	NS
GCLC (ARNm)	1,00±0,15	1,10±0,89	1,25±0,12	1,43±0,15	1,11±0,56	NS
<b>Produits d'oxydation</b>						
Thiols (nmol/mg protéines)	110±3,7 <sup>a</sup>	121±2,9 <sup>bc</sup>	123±3,4 <sup>bc</sup>	117±4,1 <sup>ac</sup>	107±3,6 <sup>a</sup>	0,01
TBARS (nmol/g de poids)	98,8±7,1 <sup>abc</sup>	104,6±6,7 <sup>ac</sup>	90,1±6,9 <sup>ab</sup>	82,6 ±4,2 <sup>b</sup>	119,6 ±10 <sup>c</sup>	0,01

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

SOD: Superoxyde dismutase, GPx: Glutathion peroxydase, GSH: Glutathion réduit, GSSG: Glutathion oxydé, Nrf2: Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2, NQO1: NAD(P)H quinone oxydoréductase 1, HO1: Hème oxygénase-1, GCLC: Glutamate-cystéine ligase catalytique, TBARS: Substances réactives de l'acide thiobarbiturique.

## 2.2-EFFETS DES REGIMES SUR L'INFLAMMATION

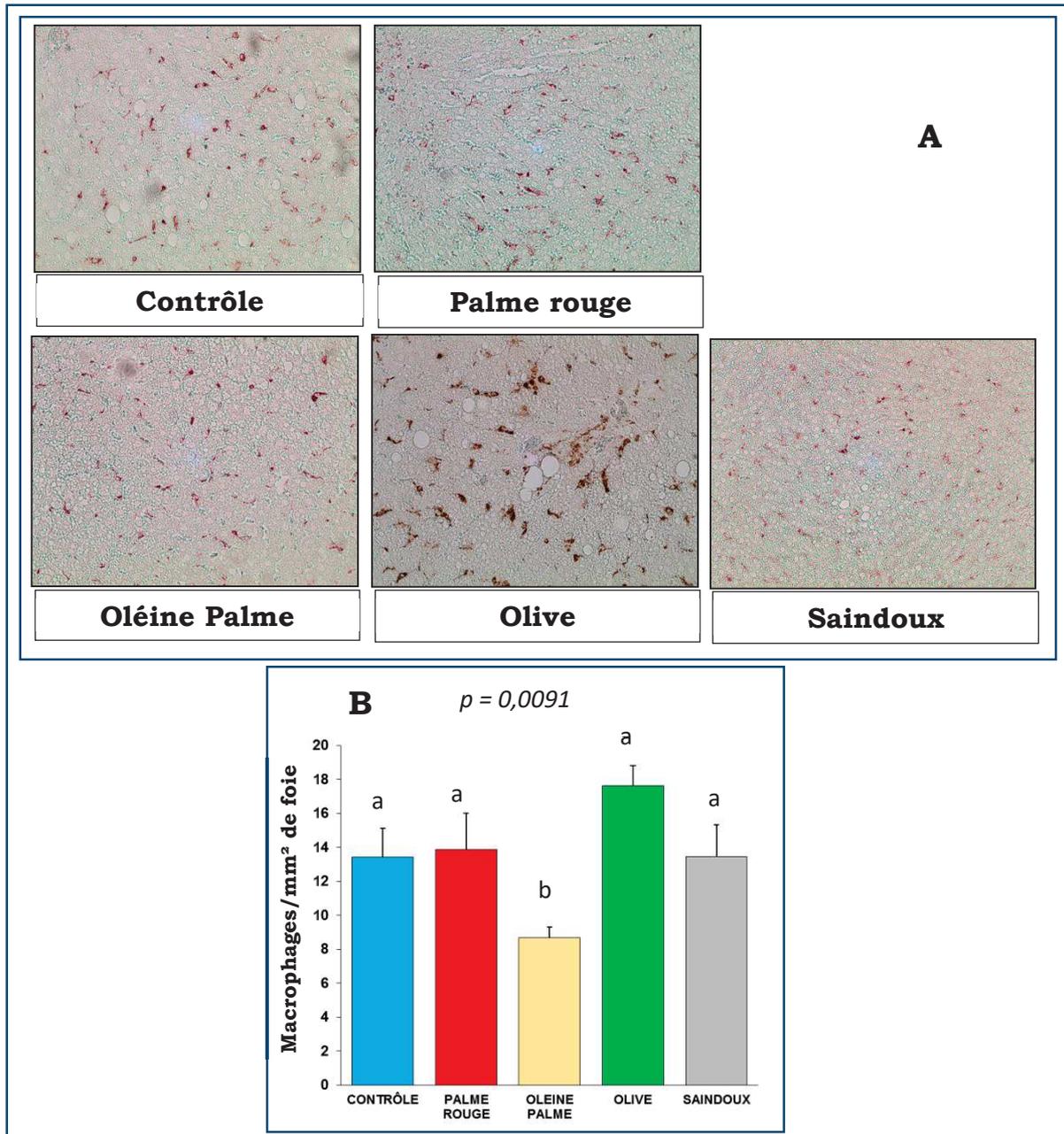
Pour apprécier les effets des régimes sur l'inflammation, des paramètres de l'inflammation ont été évalués dans le plasma, le foie et le muscle. Dans le foie, le régime huile de palme rouge a favorisé une diminution significative de l'expression de NF-kB tandis que le régime oléine de palme a favorisé une augmentation significative de l'expression de Ikb (*tableau 13*). La recherche d'infiltrations de macrophages dans le foie avec le marquage au CD68 (*figure 33A*) a montré une faible présence de macrophages avec le régime oléine de palme par rapport aux autres régimes HFD et non par rapport au contrôle. Par ailleurs, aucun régime HFD n'a favorisé une augmentation significative de macrophages par rapport au contrôle (*figure 33B*).

Tableau 13 : Variation des marqueurs de l'inflammation dans le sang, le foie et le muscle

	Contrôle	Palme rouge	Oléine de palme	Olive	Saindoux	p
<b>Plasma</b>						
IL-6(pg/mL)	14,67 $\pm$ 2,7	14,65 $\pm$ 2,9	13,98 $\pm$ 2,6	14,49 $\pm$ 4,1	14,28 $\pm$ 3,4	NS
<b>Foie</b>						
NF-kB (ARNm)	1,00 $\pm$ 7,01 <sup>a</sup>	0,79 $\pm$ 4,21 <sup>b</sup>	0,96 $\pm$ 3,84 <sup>a</sup>	1,06 $\pm$ 6,08 <sup>a</sup>	0,93 $\pm$ 2,05 <sup>a</sup>	<0,01
Ikb (ARNm)	1,00 $\pm$ 12,6 <sup>ac</sup>	0,85 $\pm$ 6,97 <sup>a</sup>	1,78 $\pm$ 25,4 <sup>b</sup>	1,38 $\pm$ 17,5 <sup>c</sup>	1,33 $\pm$ 15,2 <sup>c</sup>	<0,01
IL-1 $\beta$ (ARNm)	1,00 $\pm$ 11,1	0,80 $\pm$ 5,97	0,92 $\pm$ 4,97	0,99 $\pm$ 10,3	0,96 $\pm$ 4,84	NS
<b>Muscle</b>						
NF-kB (protéine)	1,00 $\pm$ 0,17	1,07 $\pm$ 0,26	1,23 $\pm$ 0,29	1,17 $\pm$ 0,33	1,39 $\pm$ 0,44	NS
Ikb (protéine)	1,00 $\pm$ 0,11	1,04 $\pm$ 0,85	1,14 $\pm$ 0,64	1,13 $\pm$ 0,91	1,00 $\pm$ 0,15	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement

différentes. IL-6 : Interleukine-6, NF-kB : Nuclear Factor-kappa B, IκB : Inhibiteur de NF-kB, IL-1β : Interleukine-1 beta.



**Figure 33** : Effets des régimes sur les infiltrations macrophagiques dans le foie. (A) Coupe histologique du foie (n = 10-20/rat) montrant les infiltrations macrophagiques après marquage au CD68 (grossissement x 200). (B) Quantité de macrophages/mm<sup>2</sup> de foie.

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 8$ ). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

## 2.3-DISCUSSION

### 2.3.1-Effets des régimes sur le statut antioxydant

L'analyse des paramètres du système antioxydant n'a montré aucune différence significative entre les différents régimes tant dans le plasma que dans le foie. Concernant les produits d'oxydation, des variations significatives ont été observées dans le foie. Les groupements thiols du foie ont été augmentés significativement ( $p = 0,01$ ) par rapport au contrôle par l'huile de palme rouge (+10 %) et l'oléine de palme (+11,8 %). Par rapport au régime contrôle, les TBARS ont diminué de 16 % avec l'huile d'olive et de 9 % avec l'oléine de palme, mais ont augmenté de 21 % avec le saindoux et de 6 % avec l'huile de palme rouge. Le saindoux a augmenté significativement ( $p = 0,01$ ) les TBARS hépatiques par rapport à l'oléine de palme et l'huile d'olive. Alors que les TBARS étaient significativement diminués ( $p = 0,01$ ) avec l'huile d'olive par rapport au saindoux et à l'huile de palme rouge.

Les thiols jouent un rôle « tampon » très important dans l'organisme. En cas de stress oxydant important, les thiols rétablissent l'équilibre « redox » (balance oxydation/réduction), en éliminant des radicaux libres. Les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) protègent plus efficacement le foie contre les ER car ils conduisent à une élévation significative des thiols hépatiques. Par ailleurs, aucun régime n'a conduit à une diminution significative du taux des groupements thiols plasmatiques et hépatiques. Ceci suggère qu'aucun régime n'a favorisé un stress oxydant, car seuls les taux effondrés des thiols objectivent un stress oxydant ancien et/ou chronique.

La lipoperoxydation a été évaluée par le dosage des TBARS (sang et foie) et de la 15-F<sub>2t</sub>-isoprotane plasmatique. Aucun régime HFD n'a entraîné une augmentation significative de ces paramètres par rapport au contrôle. Etant donné que seule une augmentation de ces paramètres signe une oxydation des lipides par les ER, nous pouvons dire que les régimes HFD n'ont pas favorisé la lipoperoxydation.

Ces résultats indiquent que le régime HFD à base d'huile de palme (rouge ou oléine) n'augmente pas plus le stress oxydant que le régime HFD à base d'huile d'olive, et que, à travers la diminution des thiols, il protégerait même un peu plus contre les effets délétères des ER. Par ailleurs, de nombreuses études militent en faveur du pouvoir antioxydant de l'huile de palme.

La déficience en sélénium favorise la diminution de l'activité de la GPx avec comme conséquence la survenue d'un important stress oxydant, source de nombreuses pathologies (Navarro-Alarcon et Lopez-Martinez, 2000; Rayman, 2000). Une étude réalisée en Côte d'Ivoire a montré que des sujets déficients en sélénium et en GPx, consommateurs réguliers d'huile de palme (rouge ou oléine) avaient un bon statut antioxydant et ne présentaient pas de stress oxydant (Tiahou *et al.*, 2004). Dans une autre étude réalisée sur quatre variétés d'huile de palme de Côte d'Ivoire, Mondé *et al.* (2011) ont montré que les polyphénols de ces différentes variétés réduisaient l'oxydation des LDL *in vitro*.

L'huile de palme doit ses bienfaits nutritionnels, liés à son pouvoir antioxydant, à ses composants « mineurs ». Chez l'animal, de nombreuses études (Suarna *et al.*, 1963; Azlina *et al.*, 2005; Suzana *et al.*, 2005) ont mis en évidence les effets antioxydants des tocotriénols de l'huile de palme. Le Coenzyme Q10 (ubiquinone) qui est un coenzyme naturel de l'huile de palme, est un puissant piègeur de radicaux libres (Niklowitz *et al.*, 2007) qui possède un pouvoir antioxydant dix fois plus puissant que celui des caroténoïdes et de la vitamine E (Ng *et al.*, 2002). L'huile de palme est l'huile végétale la plus riche en tocotriénols et en caroténoïdes (Sundram *et al.*, 2003; Sen *et al.*, 2010). Tocotriénols et caroténoïdes sont de puissants agents anti-radicalaires dont le rôle cardio-protecteur a été démontré (Rooyen *et al.*, 2008; Vasanthi *et al.*, 2012; Wong et Radhakrishnan, 2012).

Malgré la perte, lors du raffinage, des caroténoïdes (Lecerf, 2013) et de micro-constituants tels les flavonoïdes et les acides phénoliques (Tan *et al.*, 2001), l'oléine de palme conserve toujours ses propriétés antioxydantes, comme le montre les résultats de cette étude. Ceci serait dû au fait qu'au cours

du raffinage, l'oléine de palme s'enrichit en tocotriénols (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Lecerf, 2012, 2013) qui est un puissant piègeur radicalaire.

Les résultats de cette étude montrent que la consommation de l'huile de palme sous sa forme brute (huile de palme rouge) ou raffinée (oléine de palme) induit un statut antioxydant superposable à celui induit par l'huile d'olive.

### **2.3.2-Effets des régimes sur l'inflammation**

Concernant les paramètres inflammatoires étudiés (IL-6 plasmatique, IL-1 $\beta$  hépatique, NF-kB et I $\kappa$ B- $\alpha$  hépatiques et musculaires), aucun régime HFD n'a favorisé l'inflammation. Dans le foie, l'huile de palme rouge a entraîné une diminution significative ( $p < 0,01$ ) de l'expression du gène NF-kB de 21 %, tandis que l'oléine de palme a augmenté significativement ( $p = 0,01$ ) l'expression du gène I $\kappa$ B- $\alpha$  de 78 %, par rapport au régime contrôle. Par ailleurs, l'oléine de palme a induit une faible infiltration de macrophages ( $p = 0,0091$ ) dans le foie des rats par rapport aux autres régimes HFD.

NF-kB est un facteur de transcription nucléaire qui joue un rôle important dans l'inflammation, l'immunité, la prolifération cellulaire, la différenciation et la survie (Morgan et Liu ZG, 2011; Tornatore *et al.*, 2012)

NF-kB est le pivot des cellules phagocytaires car il permet de les activer. Par conséquent, on observe une augmentation de NF-kB et / ou de ses activateurs en cas d'inflammation aiguë ou chronique (Monaco *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2009; Hajishengallis et Chavakis, 2013). I $\kappa$ B- $\alpha$  inhibe NF-kB en masquant les signaux de localisation nucléaire des protéines NF-kB et en les séquestrant dans un état inactif dans le cytoplasme (Jacobs et Harrison, 1998). En outre, I $\kappa$ B- $\alpha$  bloque la capacité des facteurs de transcription de NF-kB à se lier à l'ADN, ce qui est nécessaire pour le bon fonctionnement de NF-kB (Verma *et al.*, 1995).

La diminution significative de NF-kB par l'huile de palme rouge et l'augmentation significative I $\kappa$ B- $\alpha$  par l'oléine de palme montre que les régimes huiles de palme protègent mieux le foie contre l'inflammation. Ces actions de l'huile de palme sur NF-kB et I $\kappa$ B- $\alpha$  pourraient s'expliquer par la forte teneur de cette huile en tocotriénols. En effet, les tocotriénols possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Reiter *et al.*, 2007; Yam *et al.*, 2009), dues à

leur implication dans l'inhibition de la voie d'activation de NF-kB (Ahn *et al.*, 2007; Ng et Ko, 2012). Des études réalisées *in-vitro*, avec les tocotriénols de l'huile de palme, ont montré ses effets anti-inflammatoires (Wu *et al.*, 2008) et sa capacité à réduire la prolifération des cellules cancéreuses par inhibition de la voie d'activation de NF-kB (Yap *et al.*, 2008; Ji *et al.*, 2015).

Des études réalisées chez l'humain ont montré que des régimes à base d'oléine de palme, d'huile d'olive et de saindoux ne favorisent pas l'inflammation au niveau plasmatique (Teng *et al.*, 2011; Tholstrup *et al.*, 2011).

Malgré sa richesse en acides gras saturés, notamment en acide palmitique, qui est considéré comme pro-inflammatoire car activateur de la voie NF-kB (Ajuwon *et al.*, 2005; Laine *et al.*, 2007), les résultats de cette étude et les données de la littérature montrent que l'huile de palme aurait plutôt des propriétés anti-inflammatoires dues à sa forte teneur en tocotriénols.

### **III-EFFETS DES REGIMES SUR LA FONCTION MITOCHONDRIALE**

#### **3.1-CARACTERISTIQUES DE LA MEMBRANE MITOCHONDRIALE**

L'étude du potentiel de membrane et de la composition en phospholipides et en AG de la membrane ont permis d'apprécier les effets des régimes sur la membrane mitochondriale.

Aucun régime HFD n'a modifié le potentiel de membrane mitochondriale. La teneur totale en phospholipides des mitochondries du foie était la même pour tous les régimes. Le régime oléine de palme a favorisé une diminution significative de la teneur en CL par rapport aux autres régimes. Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes pour la teneur des autres classes de phospholipides LPC, SM, PC, PI, PS et PE (*tableau 14*).

L'analyse des acides gras des phospholipides de la membrane mitochondriale du foie (*tableau 15*) a montré que les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) ont favorisé une augmentation significative de la teneur en acide palmitique (16:0) par rapport aux autres régimes, alors que celle-ci était significativement diminuée avec les régimes saindoux et huile d'olive. La teneur en acide stéarique (18:0) était significativement plus augmentée avec

le régime saindoux par rapport au contrôle. La teneur totale en AGS des régimes saindoux et huiles de palme n'était pas significativement différente de celle du régime contrôle. Cette teneur était significativement diminuée par rapport aux autres régimes avec l'huile d'olive. La teneur totale en AGMI a été augmentée significativement par les régimes huiles de palme et huile d'olive par rapport au contrôle. Les régimes HFD ont augmenté de façon significative la teneur en acide oléique (18:1n-9) et diminué significativement les teneurs en acides palmitoléique (16:1n-7) et *trans*-vaccénique (18:1n-7), par rapport au contrôle. Tous les régimes HFD ont diminué significativement les teneurs en acides linoléique (18:2n-6),  $\gamma$ -linoléique (18:3n-6),  $\alpha$ -linoléique (18:3n-3) et éicosapentaénoïque (20:5n-3) par rapport au contrôle. Les acides clupanodonique (DPA) (22:5n-3) et docosahexaénoïque (DHA) (22:6n-3) étaient diminués significativement avec les régimes huiles de palme (rouge ou oléine). Aucun régime n'a favorisé une modification significative de la teneur en acides arachidonique (20:4n-6) et dihomogamma-linoléique (DGLA) (20:3n-6). Les taux d'AGPI n-6 étaient diminués significativement par rapport au contrôle avec tous les régimes HFD alors que la teneur en AGPI n-3 était diminuée significativement par les régimes huiles de palme et huile d'olive, avec une augmentation significative du rapport n-6/n-3 par ces trois régimes. Les rapports AGS/AGPI et n-3/AGPI ont été diminués par les régimes huiles de palme et olive alors que le rapport AGPI/AGS a été diminué seulement par les régimes huiles de palme.

Tous les régimes HFD ont diminué significativement l'activité de la  $\Delta 9$  désaturase [16:1n-7/16:0] par rapport au contrôle alors que l'activité de la  $\Delta 6$  désaturase [18:3n-6/18:2n-6] a été significativement diminuée par le saindoux. L'indice d'insaturation (UI) a significativement diminué avec les régimes huiles de palme (rouge ou oléine).

### 3.2-ACTIVITE DES ENZYMES MITOCHONDRIALES

Les régimes ont entraîné des modifications de l'activité de certaines enzymes mitochondriales (*tableau 16*). Les régimes saindoux et huile d'olive ont diminué significativement la quantité de la CLS hépatique par rapport aux autres régimes. L'activité du complexe II a été significativement diminuée par

le régime huile d'olive par rapport au contrôle et au régime oléine de palme. Aucune différence n'a été observée entre les régimes pour les autres enzymes (citrate synthase, complexes I, II+III et IV).

**Tableau 14 :** Potentiel de membrane et composition en phospholipides membranaires

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
<b>Potentiel de membrane</b>						
Mito sans substrat (UA)	0,51 ± 0,3	0,49 ± 0,3	0,53 ± 0,1	0,53 ± 0,3	0,53 ± 0,3	NS
Mito avec G/M/S (UA)	0,68 ± 0,1	0,66 ± 0,2	0,70 ± 0,1	0,69 ± 0,3	0,68 ± 0,2	NS
Mito avec G/M/S + ADP (UA)	0,52 ± 0,0	0,52 ± 0,1	0,53 ± 0,1	0,52 ± 0,1	0,51 ± 0,1	NS
<b>Composition en phospholipides (PL)</b>						
PL totaux (nmol/mg protéines)	228 ± 9,1	206 ± 12	236 ± 13	226 ± 7,4	230 ± 11	NS
LPC (% nmol)	1,57 ± 0,29	1,74 ± 0,19	1,25 ± 0,18	1,43 ± 0,25	1,34 ± 0,27	NS
SM (% nmol)	2,04 ± 0,06	1,89 ± 0,10	1,99 ± 0,13	2,16 ± 0,15	2,02 ± 0,19	NS
PC (% nmol)	50,6 ± 0,56	51,9 ± 0,62	52,6 ± 0,59	51,8 ± 0,65	51,0 ± 0,63	NS
PI (% nmol)	4,96 ± 0,17	5,54 ± 0,22	4,94 ± 0,36	5,00 ± 0,27	5,52 ± 0,32	NS
PS (% nmol)	1,59 ± 0,21	1,20 ± 0,21	1,12 ± 0,26	1,15 ± 0,27	1,26 ± 0,28	NS
PE (% nmol)	30,19 ± 0,32	28,88 ± 0,55	29,06 ± 0,47	29,30 ± 0,52	28,28 ± 0,55	NS
CL (% nmol)	9,02 ± 0,26 <sup>a</sup>	8,89 ± 0,29 <sup>a</sup>	8,04 ± 0,32 <sup>b</sup>	9,14 ± 0,26 <sup>a</sup>	9,56 ± 0,32 <sup>a</sup>	0,016
PC/PE (% nmol)	1,68 ± 0,03	1,80 ± 0,06	1,81 ± 0,05	1,78 ± 0,05	1,75 ± 0,05	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

UA : Unités arbitraires, G : Glutamate, M : Malate; S : Succinate, ADP : adénosine diphosphate, LPC : Lysophosphatidylcholine, SM : Sphingomyéline, PC : Phosphatidylcholine, PI: Phosphatidylinositol, PS: Phosphatidylsérine, PE: Phosphatidyléthanolamine, CL: Cardiolipine.

Tableau 15 : Composition en acides gras des phospholipides des mitochondries du foie

	Contrôle	Palme rouge	Oléine de palme	Olive	Saindoux	P
AGS totaux	39,1 ± 0,43 <sup>a</sup>	41,1 ± 0,58 <sup>a</sup>	39,9 ± 0,64 <sup>a</sup>	30,9 ± 1,33 <sup>b</sup>	38,8 ± 0,74 <sup>a</sup>	<0,01
16:0	25,4 ± 0,76 <sup>a</sup>	27,4 ± 0,65 <sup>b</sup>	27,3 ± 0,28 <sup>b</sup>	20,4 ± 0,81 <sup>c</sup>	22,6 ± 0,47 <sup>c</sup>	<0,01
18:0	12,5 ± 0,75 <sup>ac</sup>	12,8 ± 0,87 <sup>ac</sup>	11,6 ± 0,78 <sup>ab</sup>	9,70 ± 1,34 <sup>b</sup>	15,3 ± 1,00 <sup>c</sup>	<0,01
AGMI totaux	20,5 ± 1,22 <sup>a</sup>	28,4 ± 1,73 <sup>bd</sup>	30,8 ± 1,17 <sup>b</sup>	37,9 ± 2,72 <sup>c</sup>	24,7 ± 1,79 <sup>ad</sup>	<0,01
16:1n-7	3,40 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,18 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,07 <sup>b</sup>	<0,01
18:1n-9	13,4 ± 0,92 <sup>a</sup>	25,0 ± 1,69 <sup>bd</sup>	27,1 ± 1,19 <sup>b</sup>	33,3 ± 2,64 <sup>c</sup>	20,8 ± 1,78 <sup>d</sup>	<0,01
18:1n-7	3,10 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,09 <sup>b</sup>	2,64 ± 0,05 <sup>c</sup>	2,50 ± 0,10 <sup>c</sup>	<0,01
AGPI totaux	40,4 ± 1,29 <sup>a</sup>	30,5 ± 1,54 <sup>b</sup>	29,3 ± 0,66 <sup>b</sup>	31,2 ± 1,73 <sup>b</sup>	36,5 ± 1,14 <sup>a</sup>	<0,01
18:2n-6	18,4 ± 0,59 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,80 <sup>b</sup>	10,8 ± 0,63 <sup>b</sup>	13,5 ± 0,80 <sup>c</sup>	14,4 ± 0,53 <sup>c</sup>	<0,01
18:3n-6	0,42 ± 0,048 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,012 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,027 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,021 <sup>b</sup>	<0,01
18:3n-3	0,78 ± 0,058 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,020 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,017 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,031 <sup>b</sup>	0,38 ± 0,035 <sup>c</sup>	<0,01
20:3n-6	0,29 ± 0,030	0,26 ± 0,051	0,32 ± 0,033	0,32 ± 0,042	0,33 ± 0,049	NS
20:4n-6	15,1 ± 1,07	14,3 ± 1,27	13,3 ± 0,68	12,7 ± 1,67	15,7 ± 1,20	NS
20:5n-3	0,23 ± 0,034 <sup>a</sup>	0,04±0,006 <sup>bc</sup>	0,03 ± 0,006 <sup>b</sup>	0,05±0,002 <sup>bc</sup>	0,09 ± 0,006 <sup>c</sup>	<0,01
22:5n-3	0,36 ± 0,023 <sup>a</sup>	0,22±0,021 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,014 <sup>b</sup>	0,22±0,014 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,047 <sup>a</sup>	<0,01
22:6n-3	4,19 ± 0,31 <sup>a</sup>	2,74±0,18 <sup>b</sup>	2,64 ± 0,22 <sup>b</sup>	3,02±0,42 <sup>b</sup>	4,15 ± 0,28 <sup>a</sup>	<0,01
n-6 totaux	34,6 ± 1,03 <sup>a</sup>	27,3±1,41 <sup>b</sup>	26,2 ± 0,57 <sup>b</sup>	27,6±1,35 <sup>b</sup>	31,4 ± 0,90 <sup>c</sup>	<0,01
n-3 totaux	5,72 ± 0,29 <sup>a</sup>	3,19±0,18 <sup>b</sup>	3,09 ± 0,21 <sup>b</sup>	3,57±0,41 <sup>b</sup>	5,13 ± 0,29 <sup>a</sup>	<0,01
n-6/n-3	6,12 ± 0,20 <sup>a</sup>	8,61±0,36 <sup>b</sup>	8,66 ± 0,53 <sup>b</sup>	8,20±0,68 <sup>b</sup>	6,18 ± 0,22 <sup>a</sup>	<0,01
AGS/AGMI	1,95 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,50±0,12 <sup>b</sup>	1,31 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,87±0,11 <sup>c</sup>	1,64 ± 0,16 <sup>ab</sup>	<0,01
AGPI/AGS	1,04 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,74±0,04 <sup>b</sup>	0,73 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,01±0,04 <sup>a</sup>	0,94 ± 0,02 <sup>a</sup>	<0,01
n-3/AGPI	0,141±0,004 <sup>a</sup>	0,105±0,004 <sup>b</sup>	0,106±0,006 <sup>b</sup>	0,113±0,007 <sup>b</sup>	0,140±0,005 <sup>a</sup>	<0,01
UI	152 ± 4,56 <sup>a</sup>	133 ±4,68 <sup>bc</sup>	131 ± 2,19 <sup>bc</sup>	141 ± 5,92 <sup>ac</sup>	149 ± 3,88 <sup>a</sup>	<0,01
Δ9 désaturase 16:1 n-7/16:0	0,132±0,010 <sup>a</sup>	0,035±0,005 <sup>b</sup>	0,041±0,007 <sup>b</sup>	0,054±0,005 <sup>b</sup>	0,040±0,003 <sup>b</sup>	<0,001
Δ6 désaturase 18:3 n-6/18:2 n-6	0,023±0,002 <sup>a</sup>	0,019±0,002 <sup>ab</sup>	0,020±0,002 <sup>a</sup>	0,018±0,002 <sup>ab</sup>	0,014±0,001 <sup>b</sup>	0,045
Δ5 désaturase 20:4 n-6/20:3 n-6	51,9 ± 2,35	52,8±4,61	43,8 ± 4,29	41,4±4,93	50,8 ± 4,53	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement

différentes. Les acides gras majeurs sont représentés et les résultats sont exprimés en pourcentage d'acide gras des phospholipides totaux.

AGS : Acides gras saturés, AGMI : Acides gras monoinsaturés, AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AGS/AGMI : AGS = % C16:0 + % C18:0 et AGMI = % C16:1 + % C18:1.

AGPI/AGS : AGS = % C16:0 + % C18:0 et AGPI = % tous les AGPI.

n-3/AGPI : total (n-3)/tous les AGPI. UI: indice d'insaturation

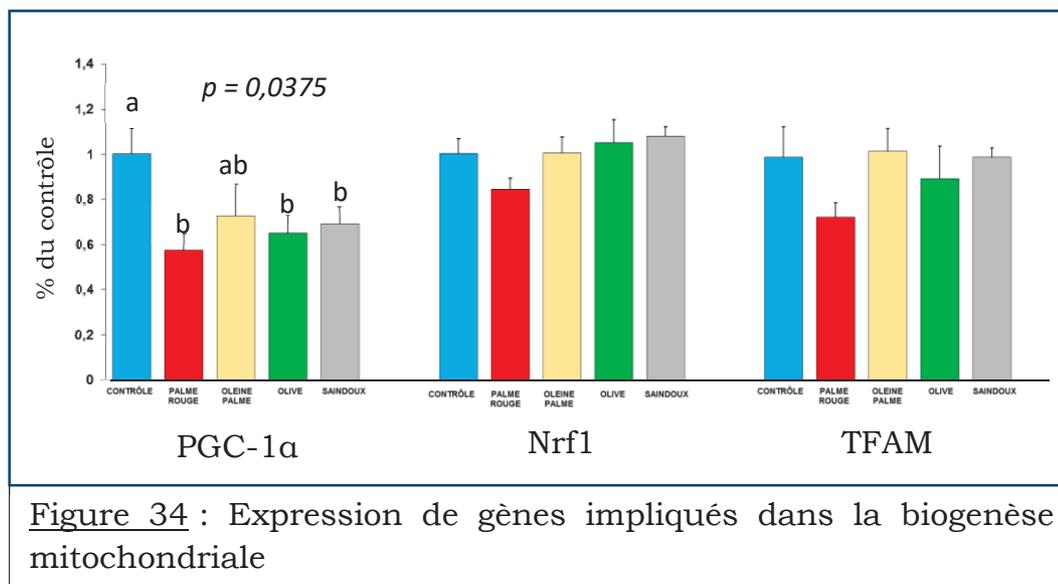
**Tableau 16** : Variation de l'activité des enzymes mitochondriales

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>P</b>
Complexe I (mU/mg protéine)	1,56 ± 0,25	1,31 ± 0,16	1,40 ± 0,14	1,41 ± 0,14	1,42 ± 0,11	NS
Complexe II (mU/mg protéine)	1,85 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,74 ± 0,04 <sup>ab</sup>	1,80 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,70 ± 0,07 <sup>ab</sup>	0,028
Complexe II+III (mU/mg protéine)	0,078±0,006	0,077±0,005	0,094±0,010	0,065±0,007	0,069±0,007	NS
Complexe IV (mU/mg protéine)	0,796±0,086	0,767±0,090	0,846±0,129	0,819±0,097	0,902±0,058	NS
Citrate Synthase (mU/mg protéine)	96,9 ± 6,12	103 ± 7,12	101 ± 6,68	106 ± 5,12	104 ± 6,72	NS
CLS (protéine)	1,00 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,84 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,90 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,38 ± 0,84 <sup>b</sup>	0,023

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. CLS : Cardiolipine synthase.

### 3.3-BIOGENESE MITOCHONDRIALE

Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant l'expression de Nr1 et TFAM. Par contre, tous les régimes HFD ont réprimé PGC-1α. Cette diminution de l'expression de PGC-1α était significative par rapport au contrôle avec les régimes huile de palme rouge, huile d'olive et saindoux (*figure 34*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n=7-8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

### 3.4-DISCUSSION

#### 3.4.1-Effets des régimes sur la membrane de la mitochondrie

L'oléine de palme a favorisé une diminution significative ( $p = 0,016$ ) de 10% de la teneur membranaire en CL par rapport au régime contrôle. Concernant la teneur des autres PL de la membrane, aucune différence significative n'a été observée entre les régimes. La teneur en PL de la membrane mitochondriale que nous avons trouvée chez les rats témoins était conforme à celle de nombreuses études (Rouser et *al.*, 1969; Ruiz et Ochoa, 1997 ; Tepsic et *al.*, 1998; Fouret et *al.*, 2015). PC et PE sont les deux principales classes de phospholipides membranaires et représentent environ 80% des phospholipides totaux du foie. La CL, phospholipide spécifique à la mitochondrie (Gebert et *al.*, 2009), représente environ 9 % des phospholipides totaux dans l'homogénat de foie. PC et PE jouent un rôle déterminant dans la fonction de la membrane. PC tend à fluidifier la membrane alors que PE tend à la rigidifier (Tepsic et *al.*, 1998). Par conséquent, le rapport PC/PE est un régulateur clé de l'intégrité/fluidité de la membrane (Arendt et *al.*, 2013). Une

diminution de ce rapport altère les propriétés de la membrane, et pourrait donc altérer aussi la fonction mitochondriale.

Contrairement à de nombreuses études (Aoun *et al.*, 2012; Stavrovskaya *et al.*, 2013; Fouret *et al.*, 2015) qui ont montré que les régimes HFD entraînaient une diminution du rapport PC/PE avec une augmentation de la teneur en CL, aucun régime HFD de notre étude n'a favorisé la diminution du rapport PC/PE et l'augmentation de la CL. Selon ces auteurs, l'augmentation de la CL serait un moyen de compensation de la diminution du rapport PC/PE afin de maintenir les propriétés de la membrane. En effet, la CL joue un rôle important dans la stabilité des propriétés physiques de la membrane et des crêtes mitochondriales (Ohtsuka *et al.*, 1993).

Malgré la diminution significative de 10 % de la teneur en CL induite par l'oléine de palme, aucune huile n'a perturbé le potentiel de membrane. Par ailleurs, les régimes HFD de notre étude ont favorisé une augmentation, non significative, du rapport PC/PE de 7,74 % pour l'oléine de palme, 7,14 % pour l'huile de palme rouge, 5,95 % pour l'huile d'olive et de 4,17 % pour le saindoux. En outre, tous les régimes HFD ont favorisé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité  $\Delta 9$ -désaturase par rapport au contrôle. Ces résultats suggèrent une absence d'effets délétères des régimes HFD à base d'huile de palme (rouge ou oléine), d'huile d'olive et de saindoux sur les propriétés physico-chimiques de la membrane mitochondriale (Serviddio *et al.*, 2013; Fouret *et al.*, 2015).

Outre les parties polaires des PL, la composition en acides gras de ces PL influence aussi les propriétés membranaires. Ainsi, la composition en acides gras des PL joue un rôle important dans la fluidité membranaire de par la longueur de la chaîne, le degré et le type d'insaturation de ces acides gras. Plus précisément, le rapport AGS/AGI est inversement proportionnel à la fluidité de la membrane (Tepsic *et al.*, 1998).

Nous avons observé une diminution significative ( $p < 0,01$ ) du rapport AGS/AGMI par rapport au contrôle avec les régimes huile de palme rouge (-23,07 %), oléine de palme (-32,82 %) et huile d'olive (-55,38 %). Ces résultats montrent l'effet bénéfique de ces trois huiles sur la fluidité membranaire. Les régimes huile de palme rouge et oléine de palme ont favorisé une diminution

significative ( $p < 0,01$ ) du rapport AGPI/AGS par rapport au contrôle, respectivement de 40 % et 42 %. Ceci suggère que les régimes huile de palme (rouge ou oléine) pourraient protéger plus efficacement la membrane mitochondriale contre les ER que les autres régimes, car une diminution du rapport AGPI/AGS rend les mitochondries moins sensibles au stress oxydatif et à la peroxydation lipidique (Kang et al., 2005).

### **3.4.2-Effets des régimes sur l'activité des enzymes mitochondriales**

Les régimes ont entraîné des perturbations de l'activité de certaines enzymes mitochondriales. Les régimes huile d'olive et saindoux ont diminué significativement ( $p = 0,023$ ) la quantité de la CLS hépatique, respectivement de 48 % et 62 %, par rapport au contrôle. L'activité du complexe II a été significativement ( $p = 0,028$ ) diminuée de 15 % par le régime huile d'olive par rapport au contrôle.

La CLS est une enzyme essentielle de la biosynthèse de la CL (Schlame et Hostetler, 1997). La diminution de sa quantité pourrait entraîner une diminution la synthèse de la CL. La CL est étroitement associée aux protéines mitochondriales et serait impliquée dans leur fonctionnement. En effet, la CL est nécessaire pour obtenir une activité optimale des complexes I (Fry et Green, 1981; Dröse et al., 2002), III (Fry et Green, 1981; Gomez et Robinson, 1999; Lange et al., 2001), IV (Robinson, 1993), et V (Eble et al., 1990).

La diminution significative de 10 % de la teneur en CL de la membrane mitochondriale induite par l'oléine de palme n'a pas perturbé l'activité des complexes de la chaîne respiratoire. Nous avons au contraire observé une diminution significative de l'activité du complexe II avec le régime huile d'olive, associé à une diminution de la quantité de CLS.

Ces résultats montrent que les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) n'ont pas d'effets délétères sur les enzymes de la chaîne respiratoire car aucune différence significative n'a été observée entre le régime contrôle et les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) concernant leurs effets sur la citrate synthase, la CLS et les complexes I, II, II+III et IV.

### **3.4.3-Effets des régimes sur la biogénèse mitochondriale**

Tous les régimes HFD ont réprimé PGC-1 $\alpha$ . Cette diminution de l'expression du gène PGC-1 $\alpha$  était significative ( $p = 0,0375$ ) par rapport au contrôle avec les régimes huile de palme rouge, huile d'olive et saindoux. De nombreux auteurs (Richardson et *al.*, 2005; Hoeks et *al.*, 2006; Feillet-Coudray et *al.*, 2014) ont montré qu'un apport excessif de matières grasses favorise la diminution du gène PGC-1 $\alpha$ .

PGC-1 $\alpha$  est le principal régulateur de la biogénèse mitochondriale, puisqu'il active l'expression des sous-unités de la chaîne respiratoire et de Nrf1 qui est un puissant stimulateur de l'expression de TFAM, POLRMT, TFB1M et TFB2M, qui sont des facteurs assurant la réplication et la transcription de l'ADNmt (Wu et *al.*, 1999; Puigserver et Spiegelman, 2003; Gleyzer et *al.*, 2005; Scarpulla, 2006; Wang et *al.*, 2006a). A ce titre, une diminution de l'expression de PGC-1 $\alpha$  aura comme conséquence à long terme une perturbation de la fonction mitochondriale.

Bien qu'aucune différence significative n'ait été observée entre les régimes concernant l'expression de Nrf1 et TFAM, la diminution de l'expression de PGC-1 $\alpha$  par les régimes HFD montre que ces derniers ont altéré la biogénèse mitochondriale.

En somme, ces résultats montrent que tout excès de matière grasse, quelle que soit son origine et sa nature, altère la biogénèse mitochondriale et par conséquent la fonction mitochondriale.

## **IV-EFFETS DES REGIMES SUR LE METABOLISME GLUCIDIQUE**

### **4.1-TEST DE TOLERANCE AU GLUCOSE PAR VOIE INTRAPERITONEALE**

Le test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT) n'a montré aucune différence significative entre les valeurs de la glycémie aux temps T0 mn, T20 mn, T30 mn, T90 mn et T120 mn pour tous les régimes. A T40 mn on a observé une augmentation significative de la glycémie par rapport au contrôle et au saindoux avec les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) et huile d'olive. Alors qu'à T60 mn, seuls les régimes huiles de palme ont

augmenté significativement la glycémie par rapport au contrôle. En conséquence, hormis le saindoux, l'aire sous la courbe (ASC) a été augmentée avec les autres régimes HFD. Cette augmentation était significative pour les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) (*tableau 17*).

Tableau 17 : Evolution de la glycémie (g/L) au cours de l'IPGTT

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
T0 mn	0,915 ± 0,02	0,893 ± 0,04	0,949 ± 0,03	0,997 ± 0,02	0,945 ± 0,04	NS
T20 mn	1,61 ± 0,11	1,93 ± 0,19	1,99 ± 0,16	2,06 ± 0,15	1,91 ± 0,17	NS
T30 mn	1,81 ± 0,12	2,03 ± 0,13	2,25 ± 0,17	2,15 ± 0,15	1,98 ± 0,13	NS
T40 mn	1,63 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,08 <sup>b</sup>	2,27 ± 0,21 <sup>b</sup>	2,11 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,94 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,009
T60 min	1,59 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,19 ± 0,19 <sup>bc</sup>	2,09 ± 0,16 <sup>bcd</sup>	1,92 ± 0,12 <sup>ac</sup>	1,77 ± 0,07 <sup>ad</sup>	0,015
T90 mn	1,62 ± 0,07	1,79 ± 0,13	1,75 ± 0,08	1,56 ± 0,07	1,62 ± 0,06	NS
T120 mn	1,46 ± 0,06	1,79 ± 0,14	1,61 ± 0,09	1,53 ± 0,10	1,54 ± 0,08	NS
ASC (g/L/120 mn)	186 ± 8,06 <sup>a</sup>	232 ± 15,2 <sup>b</sup>	225 ± 12,3 <sup>bc</sup>	211 ± 7,69 <sup>ab</sup>	202 ± 6,19 <sup>ac</sup>	0,027

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. ASC : Aire sous la courbe.

#### 4.2-EVALUATION DE L'INSULINO-RESISTANCE

La glycémie à jeun était augmentée avec les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) et huile d'olive. Cette augmentation était significative par rapport au contrôle avec les régimes huiles de palme. Par contre, aucun régime n'a entraîné une variation significative de l'insulinémie à jeun et de l'indice HOMA-IR (*tableau 18*).

La quantité totale des GLUT4 musculaires, évaluée par transfert de western, n'a pas été significativement modifiée par les régimes (*figure 35B*). L'effet des régimes sur la voie de signalisation de l'insuline a été apprécié par l'évaluation de la phosphorylation d'Akt dans le foie et dans le muscle. Aucune différence significative concernant l'activation d'Akt, appréciée par le rapport

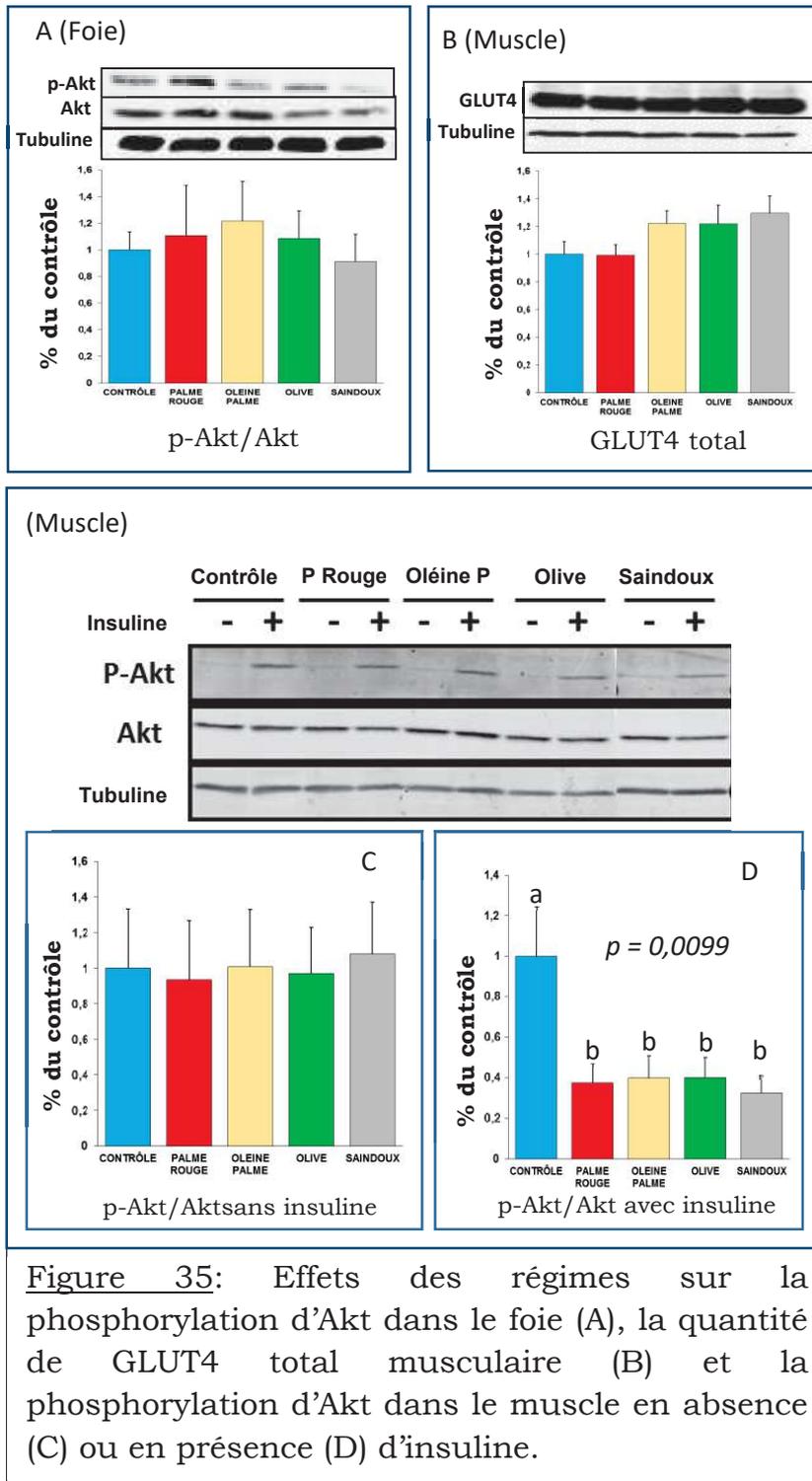
p-Akt/Akt, n'a été observée entre les régimes tant dans le foie (*figure 35A*) que dans le muscle (*figure 35C*). Par contre, dans le muscle, la stimulation de la voie avec de l'insuline a montré une diminution significative de la phosphorylation d'Akt par les régimes HFD par rapport au contrôle (*figure 35D*).

**Tableau 18** : Variation de la glycémie et de l'insulinémie en fonction des régimes

	<b>Contrôle</b>	<b>Palme rouge</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
Glucose (mmol/L)	7,73 ± 0,24 <sup>ad</sup>	8,61 ± 0,32 <sup>bc</sup>	8,73 ± 0,21 <sup>bc</sup>	8,35 ± 0,35 <sup>ac</sup>	7,31 ± 0,32 <sup>d</sup>	0,007
Insuline (µg/L)	3,08 ± 0,99	4,34 ± 0,92	5,87 ± 1,19	3,37 ± 1,01	3,74 ± 0,94	NS
HOMA-IR	26,7 ± 9,66	39,9 ± 8,70	55,1 ± 11,5	31,6 ± 10,3	30,3 ± 8,30	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment-estimated Insulin Resistance



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes. Akt: Protéine kinase B, GLUT4: Transporteur 4 du glucose.

### 4.3-DISCUSSION

Par rapport au régime contrôle, la glycémie à jeun, était augmentée avec l'huile de palme rouge (+11,38 %), l'oléine de palme (+12,93 %) et l'huile d'olive (+8 %) ; et diminuée avec le saindoux (-5,43 %). Cette augmentation était significative ( $p = 0,007$ ) avec les régimes huile de palme (rouge ou oléine). Bien qu'aucun régime n'ait entraîné une variation significative de l'insulinémie à jeun et de l'indice HOMA-IR, tous les régimes HFD ont entraîné une augmentation de la valeur de ces deux paramètres par rapport au régime contrôle.

L'aire sous la courbe obtenue après réalisation de l'IPGTT, était augmentée par tous les régimes HFD (huile de palme rouge : + 24,73 %, oléine de palme : + 20,96 %, huile d'olive : +13,44 %, saindoux : +8,60 %). Cette augmentation était significative ( $p = 0,027$ ) pour les régimes huiles de palme (rouge ou oléine).

Tous les régimes HFD ont entraîné une perturbation de la voie de signalisation de l'insuline par une diminution significative ( $p = 0,0099$ ) de la phosphorylation d'Akt musculaire.

Ces résultats montrent que tous les régimes HFD de notre étude ont perturbé le métabolisme glucidique. Cette perturbation a été marquée par une insulino-résistance musculaire induite par la diminution significative de l'activation d'Akt (Newton, 2003; Dries *et al.*, 2007; Watson et Pessin, 2007), qui a favorisé l'augmentation de l'insulinémie (Gill *et al.*, 2005) et de l'indice HOMA-IR avec tous les régimes HFD. L'IR musculaire induite par les régimes HFD serait à l'origine de l'altération de la fonction mitochondriale car selon certains auteurs (Patti *et al.*, 2003; Morino *et al.*, 2005), l'IR altère la fonction mitochondriale par une diminution de l'expression du gène codant PGC-1 $\alpha$ .

La perturbation du métabolisme glucidique par les régimes HFD avec induction d'une insulino-résistance a été mise en évidence par de nombreux auteurs (Laurent *et al.*, 2007; van den Broek *et al.*, 2010; Ciapaite *et al.*, 2011; Carillon *et al.*, 2013; Feillet-Coudray *et al.*, 2013; Collino *et al.*, 2014; Franko *et al.*, 2014; Janssens *et al.*, 2015). L'insulino-résistance induite par le régime HFD est le lien entre ce dernier et le diabète de type 2 (Wang *et al.*, 2005;

Consitt *et al.*, 2009; Samuel *et al.*, 2010; Samuel, 2011), qui apparait 10 à 20 ans après l'installation de l'IR (Warram *et al.*, 1990).

Tous ces résultats montrent qu'un régime alimentaire trop riche en matière grasse, quelle que soit sa nature (AGS ou AGI) et son origine (animale ou végétale), favorise l'insulino-résistance avec comme conséquence l'apparition d'un diabète de type 2.

## V-EFFETS DES REGIMES SUR LE METABOLISME LIPIDIQUE

### 5.1-PROFIL LIPIDIQUE PLASMATIQUE

Le régime saindoux a diminué significativement le taux plasmatique de HDL-C par rapport aux régimes contrôle et oléine de palme. Les effets des régimes sur les TG, le cholestérol total et l'indice d'athérogénicité (CT/HDL-C) n'étaient pas statistiquement différents (*tableau 19*).

Tableau 19 : Profil lipidique plasmatique induit par les régimes

	Contrôle	Palme rouge	Oléine de palme	Olive	Saindoux	<i>p</i>
TG (mmol/L)	1,031±0,146	0,985±0,107	1,326±0,208	1,011±0,108	1,013± 0,148	NS
CT (mmol/L)	2,00±0,145	1,750±0,15	1,999±0,137	1,724±0,100	1,546±0,092	NS
HDL-C (mmol/L)	1,489±0,106 <sup>a</sup>	1,341±0,085 <sup>ab</sup>	1,556±0,118 <sup>a</sup>	1,332±0,070 <sup>ab</sup>	1,059±0,115 <sup>b</sup>	0,014
CT/HDL-C	1,347±0,045	1,303±0,058	1,293±0,034	1,294±0,037	1,366±0,038	NS

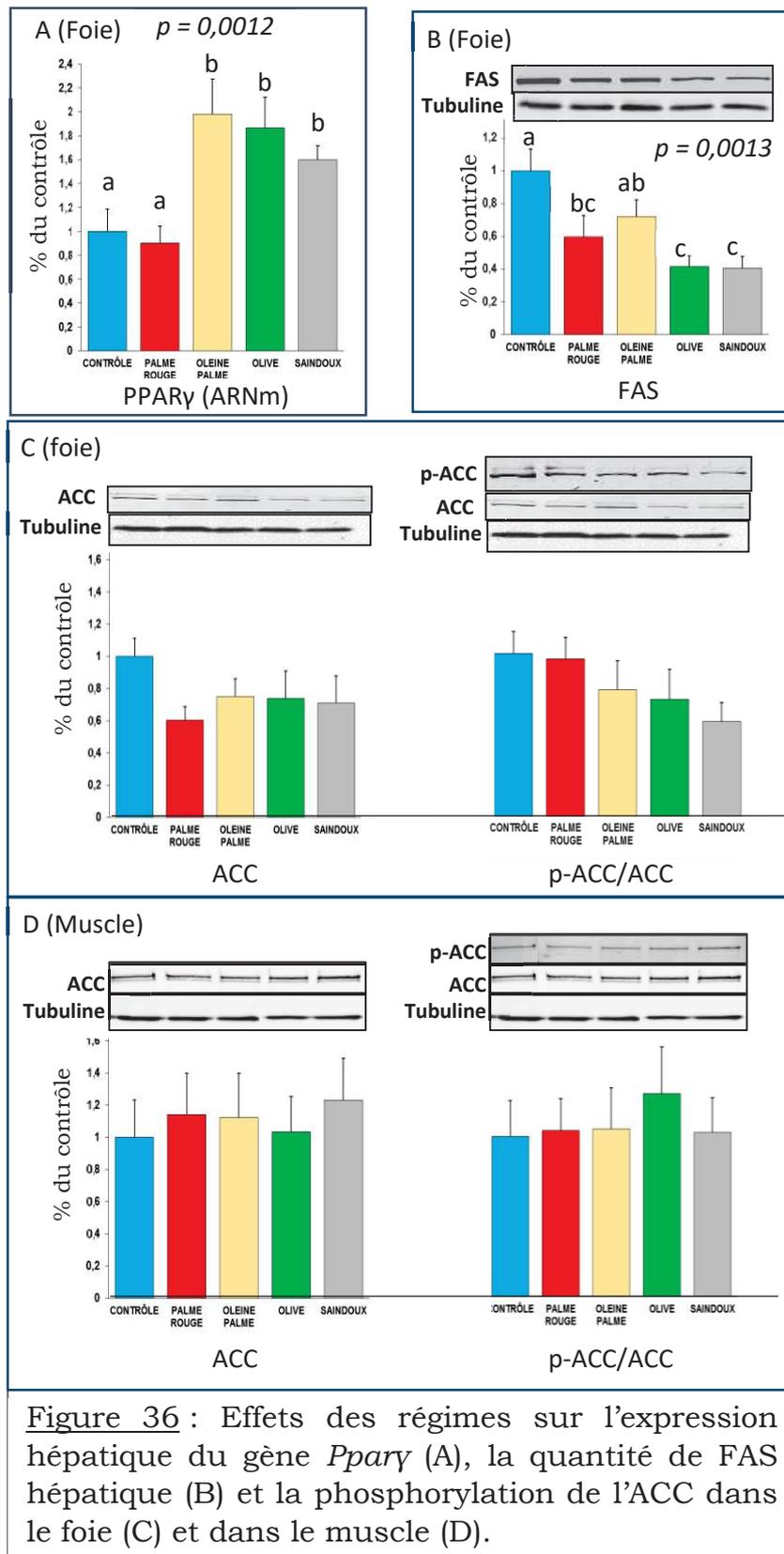
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. TG : Triglycérides, HDL-C : Cholestérol HDL, CT : Cholestérol total.

### 5.2-VARIATIONS DES PARAMETRES DE LA LIPOGENESE ET DE LA β-OXYDATION

#### 5.2.1-Variation des paramètres de la lipogénèse

Dans le foie, les régimes oléine de palme, huile d'olive et saindoux ont favorisé l'augmentation significative de l'expression du gène PPAR $\gamma$  par rapport aux régimes contrôle et huile de palme rouge (*figure 36A*). Tous les régimes HFD ont diminué la quantité de FAS hépatique. Cette diminution était significative par rapport au contrôle avec les régimes huile de palme rouge,

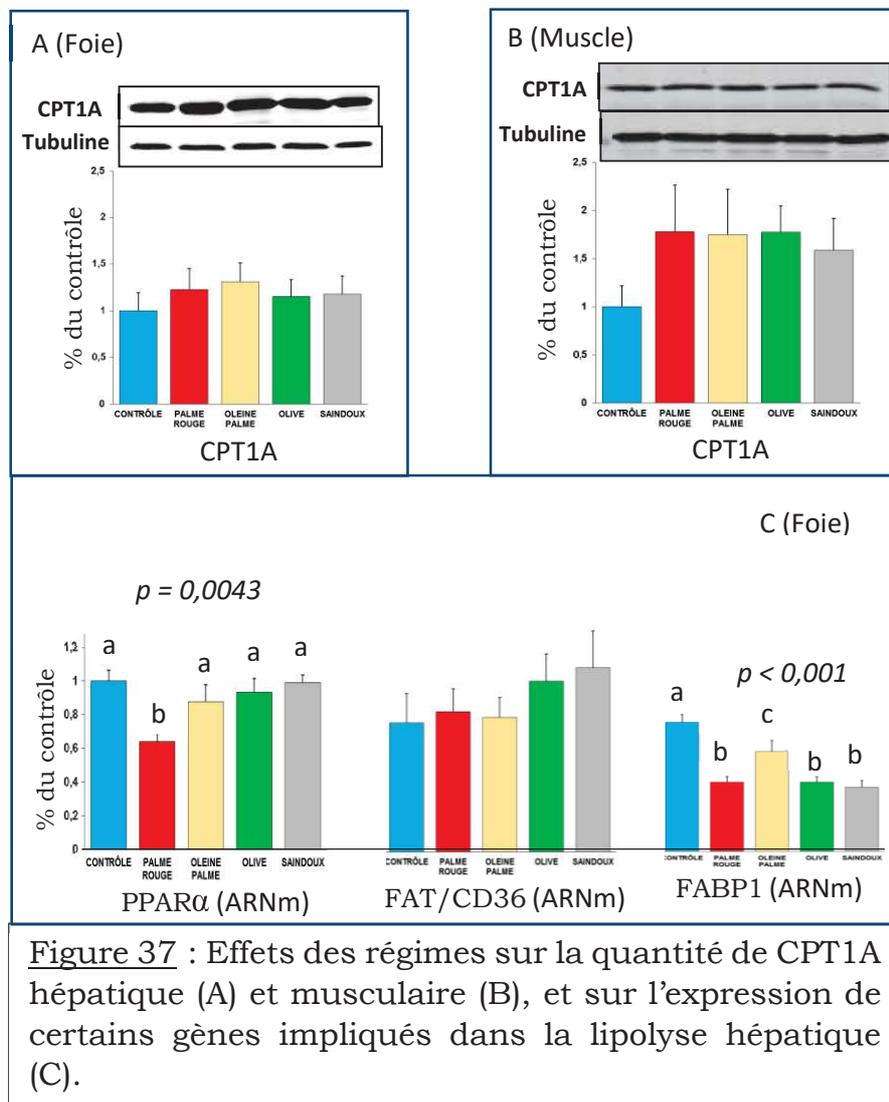
huile d'olive et saindoux (figure 36B). Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant les quantités d'ACC et de p-ACC hépatiques (figure 36C) et musculaires (figure 36D).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET ( $n = 7-8$ ). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes. PPAR $\gamma$ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, FAS: Fatty acid synthase, ACC: Acétyl coenzyme A carboxylase.

### 5.2.2-Variation des paramètres de la $\beta$ -oxydation

Les quantités de CPT1A hépatique (*figure 37A*) et musculaire (*figure 37B*) n'ont pas significativement variées. Dans le foie, le régime huile de palme rouge a entraîné une diminution significative de l'expression du gène PPAR $\alpha$  par rapport aux autres régimes. Aucun régime n'a induit de modification significative de l'expression de FAT/CD36, tandis que l'expression du gène FABP1 a été significativement diminuée par tous les régimes HFD (*figure 37C*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes. CPT1A: Carnitine Palmitoyltransférase 1A, PPAR $\alpha$ : Peroxisome proliferator-activated receptor alpha, FAT/CD36: Fatty acid translocase, FABP1: Fatty acid binding protein 1.

### 5.3-COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU FOIE

Après régime, les acides gras saturés majoritaires du foie étaient : l'acide palmitique (16:0) et l'acide stéarique (18:0). Aucune différence significative n'a été observée entre les teneurs en acides palmitique et stéarique du foie des rats nourris soit avec le régime contrôle soit avec de l'huile de palme (rouge ou oléine) (*tableau 20*). Par contre, la teneur totale en AGS était significativement plus élevée avec le régime huile de palme rouge qu'avec le régime contrôle. Le régime saindoux a entraîné une diminution significative de la teneur en acide palmitique par rapport aux régimes huile de palme. Seul le régime huile d'olive a induit une diminution significative des acides palmitique et stéarique.

Tous les régimes HFD ont significativement augmenté la teneur hépatique en acide oléique (18:1n-9) et en AGMI par rapport au contrôle. Par contre, les régimes HFD ont diminué significativement les teneurs hépatiques en acides palmitoléique (16:1n-7), *trans*-vaccénique (18:1n-7), linoléique (18:2n-6),  $\gamma$ -linoléique (18:3n-6),  $\alpha$ -linoléique (18:3n-3) et éicosapentaénoïque (20:5n-3) par rapport au contrôle. L'acide arachidonique (20:4n-6) était diminué avec le régime huile d'olive. Seul la teneur en acide dihomog $\gamma$ -linoléique (DGLA) (20:3n-6) n'a pas été significativement modifiée par les régimes. Par conséquent, les teneurs en acides gras des séries n-6 et n-3 étaient diminuées significativement dans les régimes HFD par rapport au contrôle. Mais le rapport n-6/n-3 était augmenté par rapport au contrôle avec les régimes huiles de palme rouge et huile d'olive (*tableau 20*).

Tous les régimes HFD ont diminué significativement l'activité de la  $\Delta 9$  désaturase [16:1n-7/16:0] par rapport au contrôle. Alors que l'activité de la  $\Delta 5$  désaturase [20:4n-6/20:3n-6] a été significativement diminuée par l'oléine de palme, l'olive et le saindoux. Seul le régime saindoux a diminué l'activité de la  $\Delta 6$  désaturase [18: 3n-6/18: 2n-6]. L'indice d'insaturation (UI) a

significativement diminué avec tous les régimes HFD par rapport au contrôle (tableau 20).

Tableau 20 : Composition en acides gras des extraits lipidiques du foie

	Contrôle	Palme rouge	Oléine de palme	Olive	Saindoux	p
AGS totaux	37,5 ± 0,56 <sup>ad</sup>	40,1 ± 0,69 <sup>b</sup>	38,8 ± 1,04 <sup>ab</sup>	28,0 ± 0,83 <sup>c</sup>	35,5 ± 0,81 <sup>d</sup>	<0,01
16:0	26,0 ± 0,50 <sup>a</sup>	26,8 ± 0,49 <sup>a</sup>	26,1 ± 0,48 <sup>a</sup>	21,3 ± 0,28 <sup>b</sup>	23,9 ± 0,19 <sup>c</sup>	<0,01
18:0	10,1 ± 0,48 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,84 <sup>a</sup>	11,5 ± 1,29 <sup>a</sup>	5,88 ± 0,62 <sup>b</sup>	10,3 ± 0,81 <sup>a</sup>	<0,01
AGMI totaux	24,2 ± 0,84 <sup>a</sup>	29,9 ± 1,10 <sup>b</sup>	30,7 ± 1,66 <sup>b</sup>	45,3 ± 0,91 <sup>c</sup>	33,3 ± 1,51 <sup>b</sup>	<0,01
16:1n-7	3,97 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,14 <sup>b</sup>	1,01 ± 0,19 <sup>b</sup>	1,14 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,14 <sup>b</sup>	<0,01
18:1n-9	16,4 ± 0,55 <sup>a</sup>	26,4 ± 1,08 <sup>b</sup>	26,9 ± 1,75 <sup>b</sup>	40,2 ± 0,91 <sup>c</sup>	28,4 ± 1,44 <sup>b</sup>	<0,01
18:1n-7	3,11 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,08 <sup>b</sup>	2,64 ± 0,05 <sup>c</sup>	2,5 ± 0,10 <sup>c</sup>	<0,01
AGPI totaux	38,3 ± 0,99 <sup>a</sup>	30,0 ± 0,77 <sup>b</sup>	30,5 ± 0,79 <sup>b</sup>	26,7 ± 0,45 <sup>c</sup>	31,2 ± 0,82 <sup>b</sup>	<0,01
18:2n-6	19,9 ± 0,73 <sup>a</sup>	11,55 ± 0,91 <sup>b</sup>	11,4 ± 1,01 <sup>b</sup>	15,8 ± 0,85 <sup>c</sup>	15,5 ± 0,58 <sup>c</sup>	<0,01
18:3n-6	0,492±0,042 <sup>a</sup>	0,228±0,014 <sup>b</sup>	0,236±0,014 <sup>b</sup>	0,310±0,027 <sup>b</sup>	0,264±0,020 <sup>b</sup>	<0,01
18:3n-3	0,994±0,057 <sup>a</sup>	0,185±0,026 <sup>b</sup>	0,197±0,032 <sup>b</sup>	0,361±0,030 <sup>c</sup>	0,479±0,079 <sup>c</sup>	<0,01
20:3n-6	0,205±0,014	0,273±0,035	0,321±0,031	0,253±0,027	0,264±0,033	NS
20:4n-6	12,1 ± 0,68 <sup>ac</sup>	13,6 ± 0,97 <sup>a</sup>	13,5 ± 1,29 <sup>a</sup>	7,42 ± 0,67 <sup>b</sup>	10,6 ± 0,94 <sup>c</sup>	<0,01
20:5n-3	0,228±0,017 <sup>a</sup>	0,056±0,013 <sup>b</sup>	0,046±0,009 <sup>b</sup>	0,066±0,006 <sup>b</sup>	0,130±0,009 <sup>c</sup>	<0,01
22:5n-3	0,330±0,021 <sup>ad</sup>	0,230±0,013 <sup>bc</sup>	0,293±0,019 <sup>ab</sup>	0,179±0,012 <sup>c</sup>	0,367±0,037 <sup>d</sup>	<0,01
22:6n-3	3,31 ± 0,21 <sup>a</sup>	2,52 ± 0,21 <sup>b</sup>	2,61 ± 0,33 <sup>b</sup>	1,52 ± 0,16 <sup>c</sup>	2,66 ± 0,26 <sup>ab</sup>	<0,01
n-6 totaux	33,2 ± 0,83 <sup>a</sup>	26,9 ± 0,75 <sup>b</sup>	27,3 ± 0,57 <sup>b</sup>	24,5 ± 0,48 <sup>c</sup>	27,5 ± 0,61 <sup>b</sup>	<0,01
n-3 totaux	5,05 ± 0,22 <sup>a</sup>	3,07 ± 0,18 <sup>b</sup>	3,24 ± 0,32 <sup>bd</sup>	2,21 ± 0,13 <sup>c</sup>	3,79 ± 0,27 <sup>d</sup>	<0,01
n-6/n-3	6,63 ± 0,23 <sup>a</sup>	9,04 ± 0,67 <sup>b</sup>	8,82 ± 0,70 <sup>bd</sup>	11,3 ± 0,62 <sup>c</sup>	7,40 ± 0,36 <sup>ad</sup>	<0,01
AGS/AGMI	1,56 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,11 <sup>b</sup>	11,3 ± 0,62 <sup>c</sup>	0,62 ± 0,30 <sup>d</sup>	<0,01
AGPI/AGS	1,03 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,96 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,88 ± 0,02 <sup>c</sup>	<0,01
n-3/AGPI	0,132±0,004 <sup>a</sup>	0,102±0,006 <sup>b</sup>	0,105±0,008 <sup>bd</sup>	0,083±0,005 <sup>c</sup>	0,121±0,006 <sup>ad</sup>	<0,01
UI	143±3,01 <sup>a</sup>	132±2,86 <sup>bd</sup>	135±3,59 <sup>ad</sup>	122±1,30 <sup>c</sup>	131±2,74 <sup>d</sup>	<0,01
Δ9 désaturase 16:1n-7/16:0	0,152±0,008 <sup>a</sup>	0,037±0,004 <sup>b</sup>	0,039±0,007 <sup>b</sup>	0,054±0,004 <sup>b</sup>	0,048±0,006 <sup>b</sup>	<0,01
Δ6 désaturase 18:3n-6/18:2n-6	0,025±0,002 <sup>a</sup>	0,022±0,002 <sup>a</sup>	0,021±0,002 <sup>a</sup>	0,020±0,002 <sup>a</sup>	0,017±0,001 <sup>b</sup>	0,049
Δ5 désaturase 20:4n-6/20:3n-6	59,9±2,72 <sup>a</sup>	54,3±7,04 <sup>ab</sup>	44,1±5,65 <sup>bc</sup>	30,4±2,93 <sup>c</sup>	44,7±5,85 <sup>bc</sup>	<0,01

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. Les acides gras majeurs sont représentés et les résultats sont exprimés en pourcentage d'acide gras des lipides totaux.

AGS : Acides gras saturés, AGMI : Acides gras monoinsaturés; AGPI : Acides gras polyinsaturés.

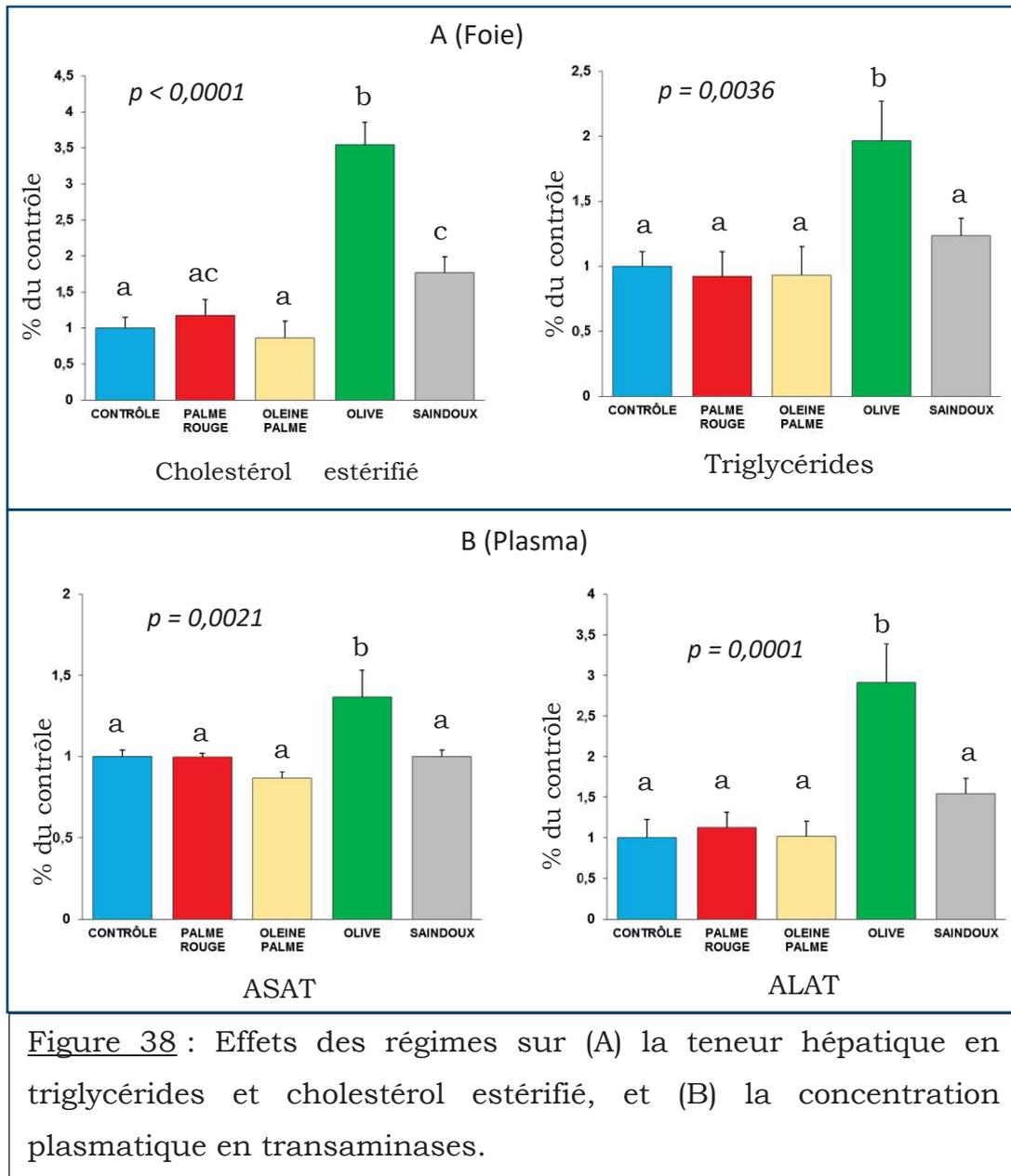
AGS/AGMI : AGS = % C16:0 + % C18:0 et AGMI = % C16:1 + % C18:1.

AGPI/AGS : AGS = % C16:0 + % C18:0 et AGPI = % tous les AGPI.

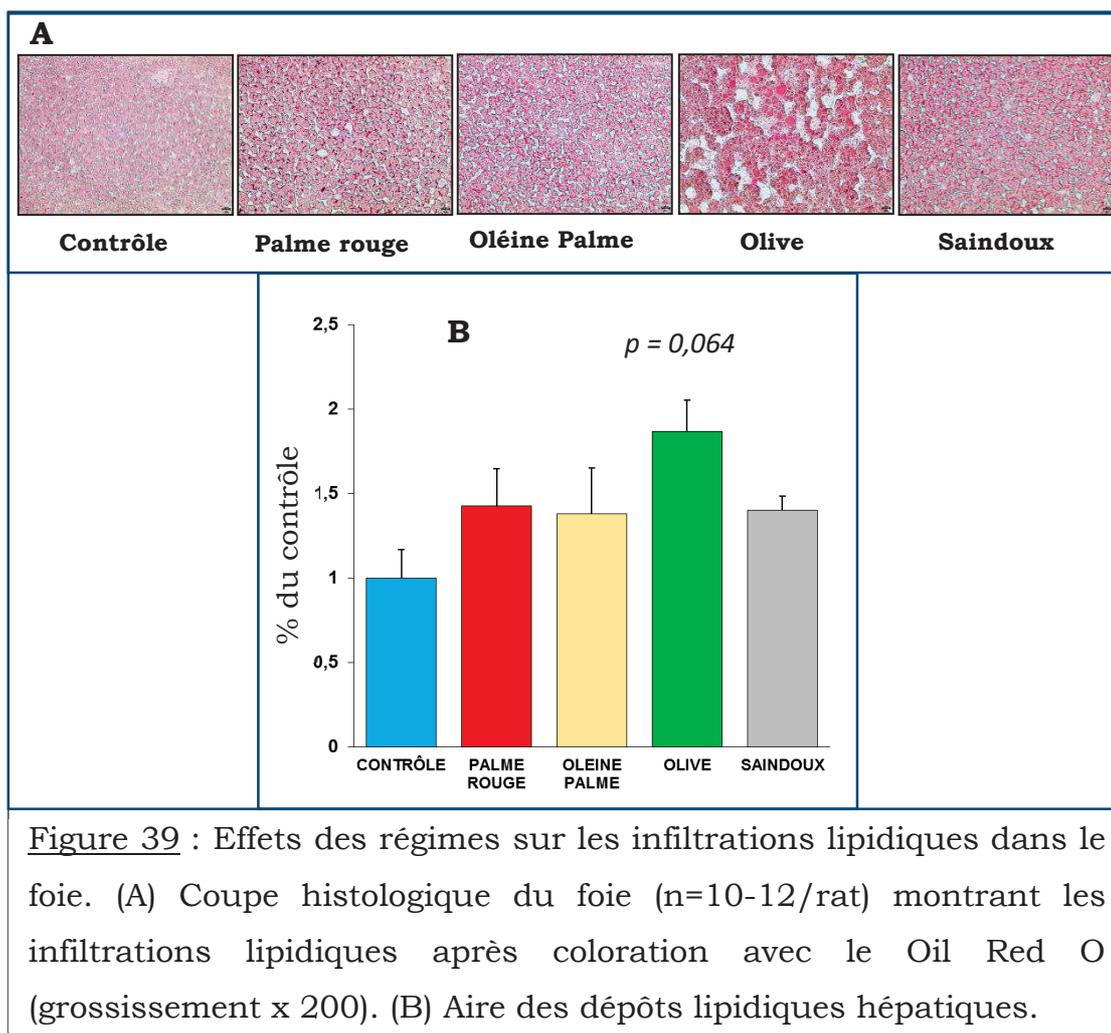
n-3/AGPI : total (n-3)/tous les AGPI. UI: indice d'insaturation

#### 5.4-INFILTRATIONS LIPIDIQUES HEPATIQUES ET HEPATOCYTOLYSE

Tous les régimes HFD ont favorisé une tendance à la stéatose hépatique (*figure 39*). Bien que la différence observée entre les dépôts lipidiques des 5 régimes n'était pas tout à fait significative, cette tendance à la stéatose était plus importante avec le régime huile d'olive. Par rapport au contrôle, l'augmentation des dépôts lipidiques hépatiques était d'environ 50% pour les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) et saindoux, et 80% pour le régime huile d'olive (*figure 39B*). D'autre part, les teneurs en TG et cholestérol estérifié du foie étaient significativement augmentées avec le régime huile d'olive, par rapport aux autres régimes (*figure 38A*). Cette stéatose a entraîné une cytolysse hépatique caractérisée par des taux plasmatiques très élevés d'ASAT et d'ALAT avec le régime huile d'olive (*figure 38B*).

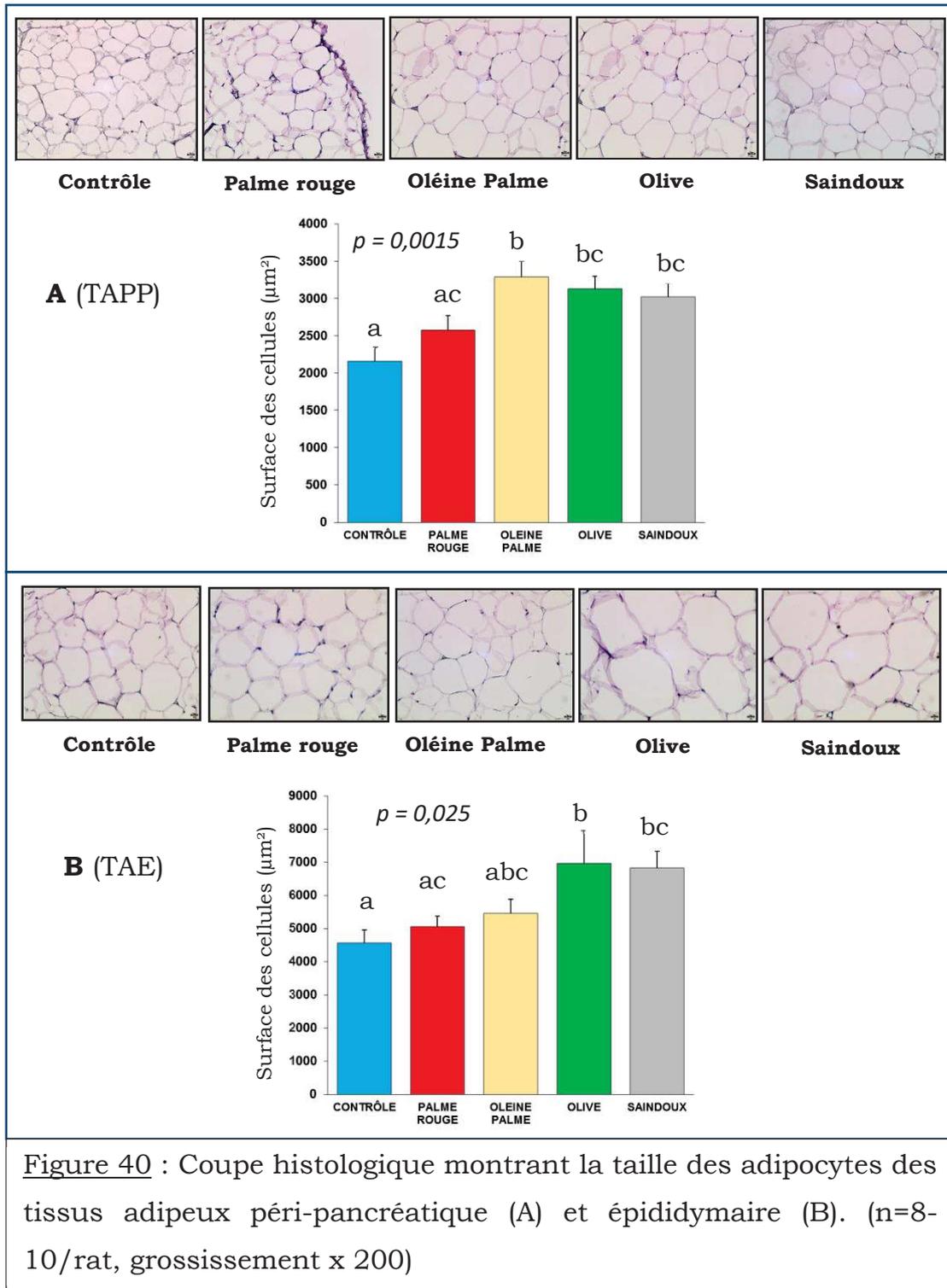


Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes. ALAT: Alanine aminotransférase, ASAT: Aspartate aminotransférase



## 5.5-MODIFICATIONS DU TISSU ADIPEUX

Deux types de tissu adipeux ont été étudiés : le tissu adipeux blanc (TAPP et TAE) et le tissu adipeux brun (TAPA). Tous les régimes ont favorisé une hypertrophie des adipocytes des tissus adipeux blancs (*figure 40*). Les régimes oléine de palme, olive et saindoux ont augmenté significativement la taille des adipocytes du TAPP par rapport au contrôle (*figure 40A*). La taille des adipocytes du TAE était significativement augmentée par rapport au contrôle avec les régimes olive et saindoux (*figure 40B*). L'effet des régimes sur le tissu adipeux brun, notamment le TAPA, a été apprécié par la recherche d'infiltrations lipidiques. Il ressort que, hormis le régime huile de palme rouge, tous les autres régimes HFD ont favorisé une infiltration lipidique dans le TAPA (*figure 41*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET. Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes. TAPP: Tissu adipeux péri-pancréatique, TAE: Tissu adipeux épididymaire.

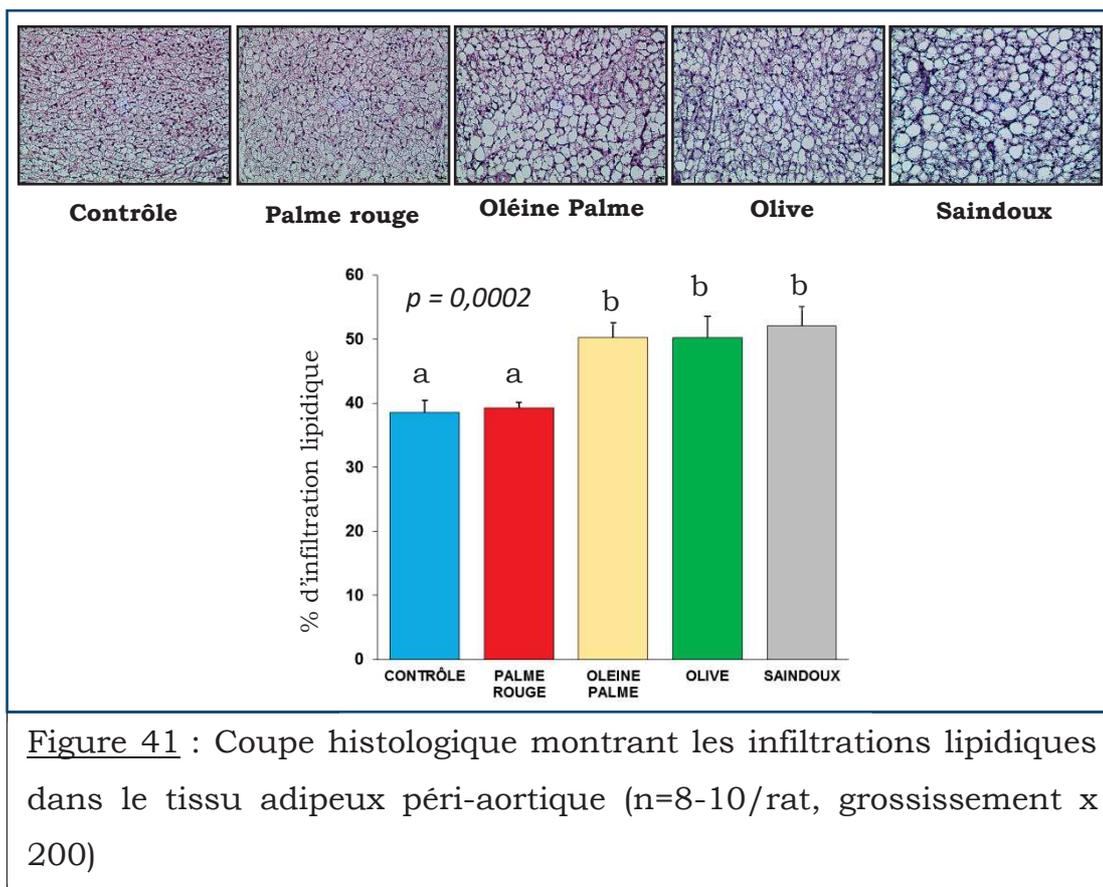


Figure 41 : Coupe histologique montrant les infiltrations lipidiques dans le tissu adipeux péri-aortique (n=8-10/rat, grossissement x 200)

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET (n = 7-8). Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

## 5.6-DISCUSSION

### 5.6.1 – Effets des régimes sur le profil lipidique plasmatique

Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant les taux plasmatiques de TG et de CT. Par rapport au contrôle, le taux plasmatique de HDL-C était diminué avec les régimes huile de palme rouge (-9,94 %), huile d'olive (-10,54 %) et saindoux (-28,88 %) et augmenté de 4,49 % avec le régime oléine de palme. La diminution de HDL-C par le régime saindoux était significative ( $p = 0,014$ ) par rapport aux régimes contrôle et oléine de palme. Bien qu'aucune différence significative n'ait été observée entre les régimes concernant l'indice d'athérogénicité (CT/HDL-C), ce dernier était, par rapport au contrôle, augmenté de 1,41 % avec le saindoux et diminué

de 3,26 % avec l'huile de palme rouge, 4 % avec l'oléine de palme et 3,93 % avec l'huile d'olive.

Le profil lipidique des consommateurs d'huile de palme a été comparé à celui des consommateurs d'huile de soja (contenant plus d'AGPI que d'AGS) (Utarwuthipong *et al.*, 2009; Fattore et Fanelli, 2013), d'huile d'olive (riche en acide oléique, un AGMI) (Truswell, 2000; Fattore et Fanelli, 2013), d'huile de tournesol (riche en acide oléique et en AGPI) (Truswell, 2000; Fattore et Fanelli, 2013) et d'huile de canola (riche en AGMI) (Vega-López *et al.*, 2006; Fattore et Fanelli, 2013). Aucune différence significative n'a été observée entre les différents profils lipidiques. Dans certains cas, des variations du cholestérol, sans incidence sur les rapports CT/HDL-C ou LDL-C/HDL-C, ont été observées. En outre, la consommation d'huile de palme n'a pas affecté de façon significative le rapport ApoB/ApoA-I (Marzuki *et al.*, 1991; Sundram *et al.*, 1997).

Le rôle des AGS dans les MCV est lié à leur nombre de carbones et leur position sur les TG (Ong et Goh, 2002; Favé *et al.*, 2004; Karupaiah et Sundram, 2007). En fait, les facteurs de risque cardiovasculaires (CT, LDL-C, HDL-C et VLDL-C) sont plus importants lorsque les principaux AGS du régime sont des AG à courte chaîne de carbone : acide laurique (C12 :0) et acide myristique (C14 :0). (Kromhout *et al.*, 1995; Clarke *et al.*, 1997).

L'athérogénicité d'un régime étant liée au degré de saturation des acides gras situés en position *sn-2* des TG (Renaud *et al.*, 1995; Kritchevsky *et al.*, 2000), le profil lipidique normal des consommateurs d'huile de palme est dû au fait que dans l'huile de palme 85 % des AG en position *sn-2* sont des AGI et que les AGS sont peu bio-disponibles (Renaud *et al.*, 1995; Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

Nos résultats et ceux de la littérature montrent que malgré sa forte teneur en AGS (50 %), l'huile de palme (rouge ou oléine) n'est pas athérogène.

### **5.6.2 – Effets des régimes sur la $\beta$ -oxydation et la lipogénèse**

Aucune différence significative n'a été observée entre les régimes concernant les quantités de CPT1A, d'ACC et de p-ACC hépatiques et musculaires.

Dans le foie, le régime huile de palme rouge a diminué significativement ( $p = 0,0043$ ) l'expression du gène PPAR $\alpha$  tandis que celle du gène PPAR $\gamma$  a été augmentée significativement ( $p = 0,0012$ ) par les régimes oléine de palme, huile d'olive et saindoux. Tous les régimes HFD ont entraîné une diminution de la quantité de la protéine FAS. Cette diminution était significative ( $p = 0,0013$ ) par rapport au contrôle avec les régimes huile de palme rouge, huile d'olive et saindoux. Aucun régime HFD n'a modifié significativement l'expression du gène FAT/CD36, tandis que FABP1 a été significativement ( $p < 0,001$ ) réprimé par tous les régimes HFD.

Dans les conditions physiologiques, pendant la lipogenèse, on observe une diminution de la  $\beta$ -oxydation du fait de l'inhibition de la CPT1A par le malonyl-CoA, intermédiaire de la synthèse des acides gras. Cependant, dans les régimes hyperlipidiques, malgré une lipogenèse augmentée, la  $\beta$ -oxydation mitochondriale hépatique est elle aussi augmentée (Brady et al., 1985; Sanyal et al., 2001; Chalasani et al., 2003; Li et al., 2003; Miele et al., 2003).

Les récepteurs nucléaires PPAR sont connus pour leurs effets sur le transport et le métabolisme des lipides. PPAR $\alpha$  est principalement un régulateur de l'oxydation des lipides (Gulick et al., 1994) alors que PPAR $\gamma$  est impliqué dans la synthèse et le stockage des lipides (Rosen et al., 1999).

L'action des régimes HFD de notre étude sur les récepteurs nucléaires PPAR est en faveur d'une lipogenèse hépatique. En effet, alors que l'expression du gène PPAR $\gamma$  était significativement augmentée ( $p = 0,0012$ ) par les régimes huile d'olive, oléine de palme et saindoux, celle de PPAR $\alpha$  était significativement diminuée par le régime huile de palme rouge ( $p = 0,0043$ ). L'action des régimes HFD sur PPAR $\alpha$ , principal régulateur de la lipolyse, serait à l'origine de l'absence d'augmentation de la  $\beta$ -oxydation. En effet, aucun régime HFD n'a modifié significativement la quantité de CPT1A ni l'expression du gène FAT/CD36, par contre, tous ont diminué l'expression du gène FABP1 (protéine cytosolique facilitant le transport intracellulaire des AGL vers la mitochondrie) (Storch et Corsico, 2008).

Nos résultats sont semblables à ceux de certains auteurs (Aoun et al., 2012; Feillet-Coudray et al., 2014).

### 5.6.3 – Effets des régimes sur le profil lipidique hépatique

Dans cette étude, les régimes HFD ont modifié significativement la composition du foie en AG. La teneur du foie en AGS a été significativement augmentée ( $p < 0,01$ ) avec l'huile de palme rouge. Ceci serait due au fait que l'huile de palme rouge est plus riche en AGS que les autres huiles de l'étude (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Mais aucune différence significative n'a été observée entre le régime contrôle et les régimes huile de palme rouge ou oléine concernant la teneur en acides palmitique et stéarique. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que plus de 85 % des AGS de l'huile de palme sont en position *sn*-1 et *sn*-3 des TG, donc non biodisponibles (Renaud *et al.*, 1995; Kritchevsky *et al.*, 2000; Sambanthamurthi *et al.*, 2000).

L'activité  $\Delta 9$ -désaturase, mesurée par le ratio 16:1n-7/16:0, a été significativement diminuée ( $p < 0,01$ ) par les régimes HFD avec comme conséquence la diminution significative ( $p < 0,01$ ) de la teneur en AGPI. La  $\Delta 9$ -désaturase ou stéaroyl-CoA désaturase est l'enzyme clé de la voie de synthèse des AGPI à partir d'AGS (Ntambi et Miyazaki, 2004).

La diminution significative ( $p < 0,01$ ) des AGPI n-3 et l'augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du rapport n-6/n-3 par les régimes HFD de notre étude sont des facteurs favorisant la stéatose hépatique. En effet, il a été rapporté que les AGPI n-3 sont capables de limiter le dépôt de triglycérides dans le foie (Xin *et al.*, 2008; Di Minno *et al.*, 2012), alors qu'un déficit en AGPI n-3 associé à une augmentation du rapport n-6/n-3 pourrait induire une stéatose hépatique (El-Badry *et al.*, 2007).

Tous les régimes HFD ont favorisé une stéatose hépatique. Par rapport au régime contrôle, cependant, l'augmentation des dépôts lipidiques hépatiques était plus importante avec le régime huile d'olive (+ 80 %) que les régimes huiles de palme (rouge ou oléine) et saindoux (+ 50 %). D'autre part, par rapport aux autres régimes, des teneurs significativement augmentées en TG ( $p = 0,0036$ ) et en cholestérol estérifié ( $p < 0,0001$ ) ont été observées dans le foie des rats ayant consommé l'huile d'olive. Cette stéatose a entraîné une cytolysse hépatique caractérisée par des taux plasmatiques très élevés d'ASAT ( $p = 0,0021$ ) et d'ALAT ( $p = 0,0001$ ) avec le régime huile d'olive.

Arbones-Mainar et *al.*, (2011) ont trouvé les mêmes résultats chez des souris nourries pendant dix semaines avec trois régimes HFD contenant 20 % de matière grasse. Cette étude a comparé les effets de trois huiles végétales (huile de palme, huile d'olive pauvre en polyphénols et huile d'olive riche en polyphénols) sur le foie. Ces auteurs ont observé une stéatose hépatique significativement plus importante ( $p < 0,05$ ) avec deux régimes huile d'olive qu'avec le régime huile de palme.

Ferramosca et *al.*, (2008) ont trouvé une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) des TG et CE dans le foie de souris nourries pendant huit semaines avec un régime contenant 7,5 % d'huile d'olive par rapport aux souris nourries avec un régime contenant 7,5 % d'huile de maïs.

Certaines études réalisées chez le rat ont montré que la consommation d'huile d'olive entraîne une augmentation de dépôt lipidique hépatique généralement plus forte qu'avec d'autres régimes, qu'ils soient à faible teneur en AG (Ruiz-Gutiérrez et *al.*, 1999, 2001; Perona et Ruiz-Gutiérrez, 2000) ou à forte teneur en AG (Portillo et *al.*, 2001 ; Takeuchi et *al.*, 2001).

La forte richesse de l'huile d'olive en AGMI, 60-70 %, (Montaño et *al.*, 2016) pourrait expliquer l'augmentation significative des TG et CE hépatiques induite par le régime huile d'olive.

La stéatose hépatique induite par les régimes HFD de notre étude pourrait s'expliquer par leur action sur les PPAR et FABP1. Les régimes huile d'olive, oléine de palme et saindoux ont augmenté significativement ( $p = 0,0012$ ) l'expression hépatique de PPAR $\gamma$ . Physiologiquement peu exprimé dans le foie, PPAR $\gamma$  présente cependant une augmentation de son expression dans plusieurs modèles murins d'obésité développant une stéatose hépatique (Burant et *al.*, 1997; Chao et *al.*, 2000; Memon et *al.*, 2000; Bedoucha et *al.*, 2001; Inoue et *al.*, 2005). Certains auteurs (Gavrilova et *al.*, 2003; Matsusue et *al.*, 2003) ont montré que l'absence d'expression hépatique de PPAR $\gamma$  atténuait la stéatose hépatique.

L'accumulation lipidique modérée induite par le régime huile de palme rouge pourrait s'expliquer par l'inhibition de la  $\beta$ -oxydation due à la répression de l'expression de PPAR $\alpha$  ( $p = 0,0043$ ) et *Fabp1* ( $p < 0,001$ ).

Newberry *et al.*, (2003) ont montré que les souris dépourvues du gène *Fabp1* avaient une  $\beta$ -oxydation significativement diminuée ( $p < 0,001$ ) par rapport aux souris normales. Selon les conditions physiologiques, les AGL qui pénètrent dans l'hépatocyte grâce à FAT/CD36 ont de multiples destinations : les AGL sont i) transformés en VLDL et libérées dans la circulation; ii) oxydés par  $\beta$ -oxydation; ou iii) estérifiés en TG et stockés sous forme de gouttelettes lipidiques dans l'hépatocyte (Wolins *et al.*, 2006). En cas d'inhibition de la voie de la  $\beta$ -oxydation, les AGL seront orientés vers l'estérification en TG et le stockage.

Tous les régimes HFD de notre étude ont favorisé une insulino-résistance (diminution significative de p-Akt musculaire) qui a, probablement, favorisé une dysfonction mitochondriale. En effet, l'IR altère la fonction mitochondriale (Patti *et al.*, 2003; Morino *et al.*, 2005; Abdul-Ghani et DeFronzo, 2010). Cette altération de la fonction mitochondriale provoquée par les régimes HFD pourrait aussi expliquer cette tendance à la stéatose hépatique observée. De nombreux auteurs ont mis en évidence le lien entre la dysfonction mitochondriale et la stéatose hépatique (Sanyal *et al.*, 2001; Ibdah *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2008; Rector *et al.*, 2010).

Il ressort de cette étude et des données de la littérature que l'huile d'olive est plus délétère pour le foie que l'huile de palme (rouge ou oléine) et le saindoux en termes d'accumulation lipidique au niveau hépatique.

#### **5.6.4 – Effets des régimes sur le tissu adipeux**

Le régime huile de palme rouge n'a pas modifié significativement le tissu adipeux. Les modifications importantes sur les tissus adipeux ont été observées avec l'oléine de palme, l'huile d'olive et le saindoux. Ces derniers ont augmenté significativement ( $p = 0,0015$ ) la taille du TAPP et favorisé une inclusion lipidique importante ( $p = 0,0002$ ) dans le TAPA, un tissu adipeux brun. Seuls le saindoux et l'huile d'olive ont augmenté significativement ( $p = 0,025$ ) la taille du TAE.

L'action des régimes sur le tissu adipeux viscéral (TAPP et TAE) pourrait influencer la stéatose hépatique induite par ces régimes. Le tissu adipeux hypertrophié n'assure plus sa fonction de stockage des triglycérides d'où

l'augmentation de la concentration sanguine en AGL. L'augmentation d'AGL plasmatiques favorise l'augmentation de l'absorption d'AG par les cellules hépatiques (Glatz *et al.*, 2010). En effet, l'implication du tissu adipeux dans le développement de la stéatose hépatique a été mis en évidence par la diminution de la quantité des triglycérides hépatiques chez des souris dont le gène codant pour la lipase hormonosensible a été inactivé, (Voshol *et al.*, 2003, Park *et al.*, 2005). Le tissu adipeux viscéral est plus fortement associé à la stéatose hépatique que le tissu adipeux sous-cutané. Selon Thomas *et al.*, (2005) le contenu en lipides hépatiques augmente de 21 % pour un gain de 1 % de tissu adipeux sous-cutané et de 104 % pour un gain de 1 % de tissu adipeux viscéral. Certains auteurs (Girard et Lafontan, 2008; Lafontan et Girard, 2008), justifient cette forte implication du tissu adipeux viscéral dans le développement de la stéatose hépatique par : i) son lien direct avec le foie *via* la circulation sanguine portale, ii) sa résistance à l'action anti-lipolytique de l'insuline et sa sensibilité aux effets lipolytiques des catécholamines.

Le tissu adipeux peut affecter par sa fonction endocrine divers organes qu'ils soient distants ou proches (Trayhurn et Beattie, 2001). En cas d'hypertrophie, le TAPP pénètre le pancréas et établit une bio-communication modulant la prolifération des cellules  $\beta$  de Langerhans (Coppack, 2005). Des transformations des tissus adipeux ont été mises à jour, le blanchiment du tissu adipeux brun et le brunissement du tissu adipeux blanc (Shimizu *et al.*, 2014; Kim et Plutzky, 2016). Au niveau de l'aorte, le blanchiment du tissu adipeux péri-aortique (TAPA) peut avoir des effets délétères sur ce vaisseau, en modifiant sa morphologie et sa fonction contractile (Hamlat Khennaf *et al.*, 2014).

En somme, les résultats de cette étude montrent que le régime huile de palme rouge n'a pas d'effets délétères sur les tissus adipeux. Par contre les régimes oléine de palme, huile d'olive et saindoux influencent négativement ces tissus.

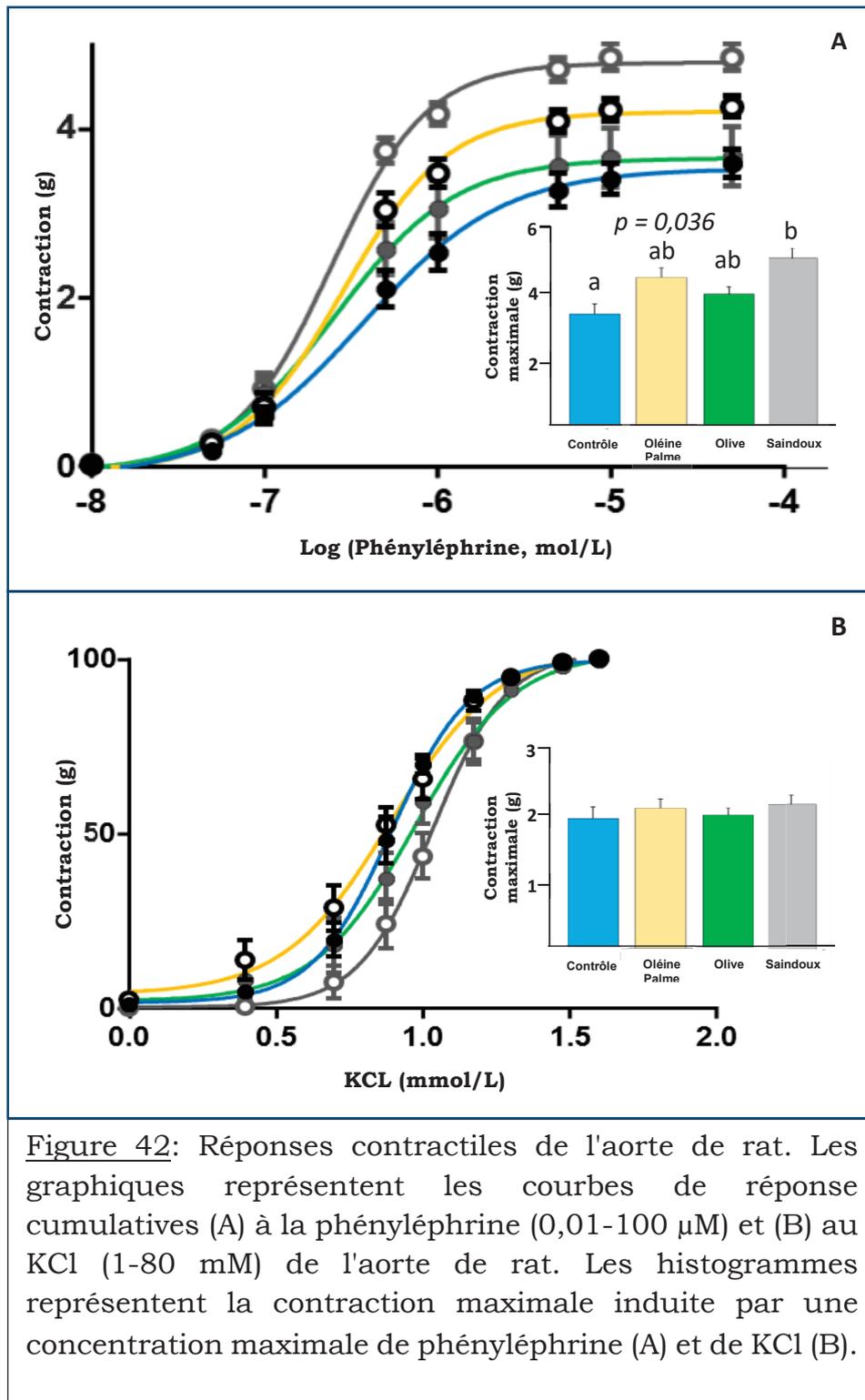
## **VI-EFFETS DES REGIMES SUR LA REACTIVITE VASCULAIRE**

La réactivité vasculaire nécessitant des anneaux d'aortes fraîchement prélevées (examens réalisés le jour du prélèvement) et compte tenu du nombre

limité de cuves de bain d'organe, nous avons traité les aortes des rats de seulement quatre régimes. Il s'agit des régimes contrôle, oléine de palme, huile d'olive et saindoux.

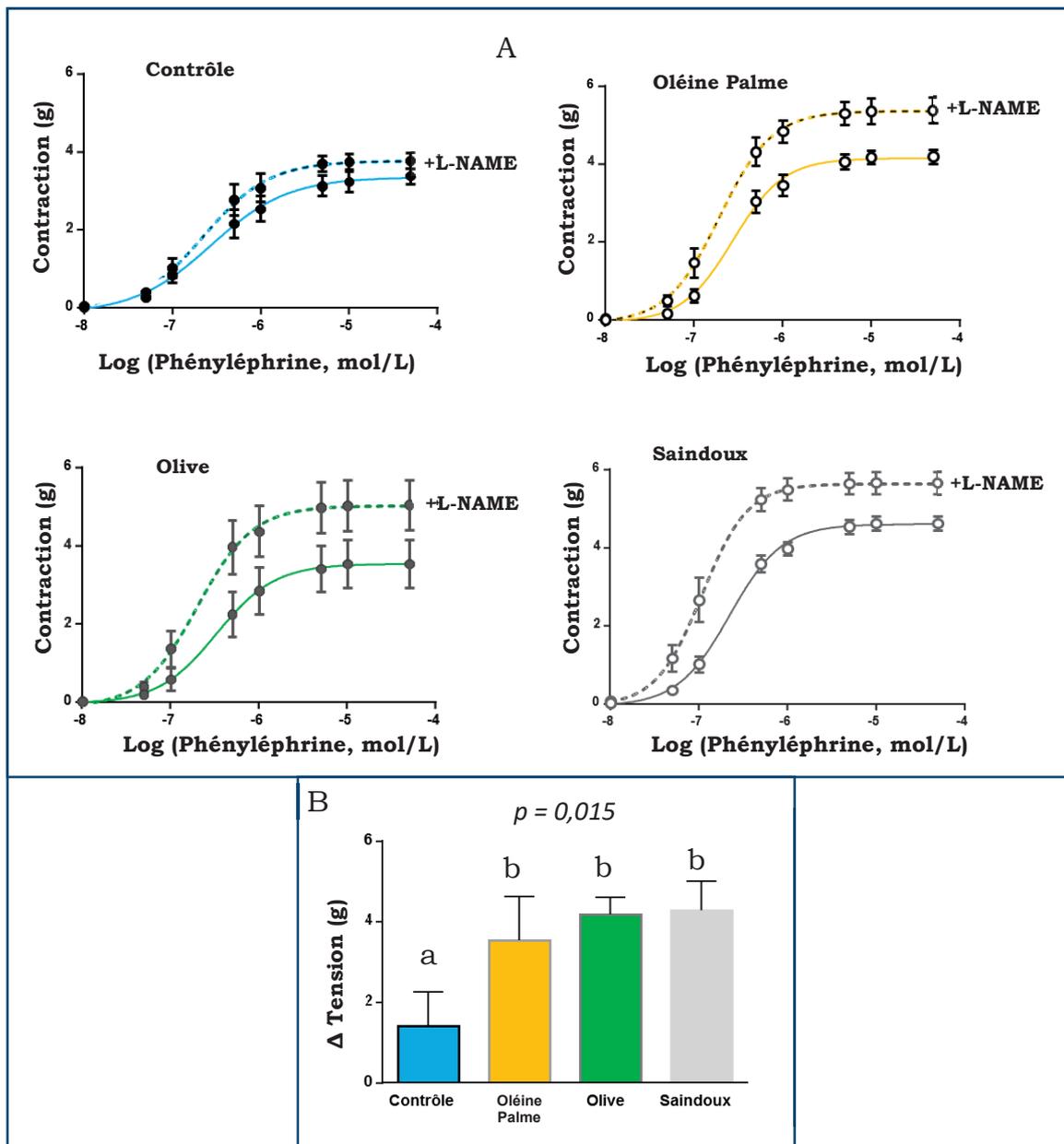
#### 6.1- EFFETS DES REGIMES SUR LA VASOCONSTRICTION

La phényléphrine (PhE) (agoniste  $\alpha$ -adrénergique) et le KCl (agent dépolarisant) ont induit une forte vasoconstriction dépendante de la dose des aortes de rat dans tous les groupes (*figure 42*). La PhE a favorisé une réponse contractile plus forte avec le régime saindoux par rapport au régime contrôle (*figure 42A*). Mais aucune différence n'a été observée entre les valeurs  $EC_{50}$  de PhE (*tableau 21*). Les régimes huiles d'olive et saindoux ont modifié les réponses au KCl (*figure 42B*). Cette modification s'est traduite par un décalage vers la droite des courbes dose-réponse correspondantes et une augmentation de la valeur  $EC_{50}$  de KCl. Par rapport au contrôle, cette augmentation était significative avec le régime saindoux (*tableau 21*). Par contre, aucune différence n'a été observée dans la contraction induite par la concentration maximale de KCl. En présence de L-NAME (un inhibiteur de la NO-synthase), la réponse à la PhE a augmenté significativement avec tous les régimes HFD (*figure 43*).



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET. Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

KCL : Chlorure de Potassium



**Figure 43:** Effet de L-NAME sur la réponse à la phényléphrine. (A) Les graphiques représentent les courbes de réponse cumulatives à la phényléphrine (0,01- 100  $\mu$ M) en présence et en absence de L-NAME. (B) L'histogramme représente la différence entre les contractions avec L-NAME et sans L-NAME pour chaque dose calculée à partir des données des graphiques.

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET. Les barres d'histogramme affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

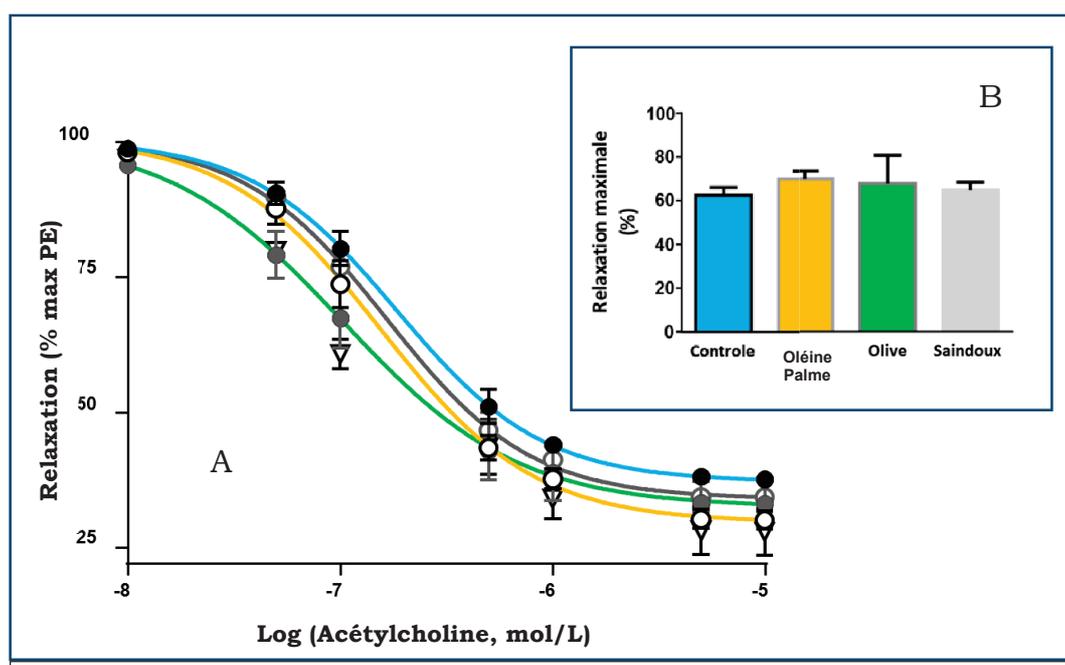
L-NAME: NG-nitro-L-arginine methyl ester

**Tableau 21** : Effets des régimes sur la concentration effective maximale moyenne (EC<sub>50</sub>)

	<b>Contrôle</b>	<b>Oléine de palme</b>	<b>Olive</b>	<b>Saindoux</b>	<b>p</b>
EC <sub>50</sub> KCL (mM)	7,97±0,5 <sup>a</sup>	7,63±0,8 <sup>a</sup>	9,03±0,7 <sup>ab</sup>	10,58±0,6 <sup>b</sup>	0,03
EC <sub>50</sub> PhE (mM)	368±41	279±30	254±27	240±22	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 7-8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes. KCL : Chlorure de Potassium, PhE : Phényléphrine.

## 6.2-EFFETS DES REGIMES SUR LA VASORELAXATION



**Figure 44**: Relaxation dépendante de l'endothélium induite par l'acétylcholine sur des anneaux aortiques pré-contractés par la phényléphrine. (A) Le graphique représente les courbes de réponse cumulatives à l'acétylcholine (0,01- 100 µM). (B) L'histogramme représente la relaxation maximale obtenue pour chaque groupe.

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET.

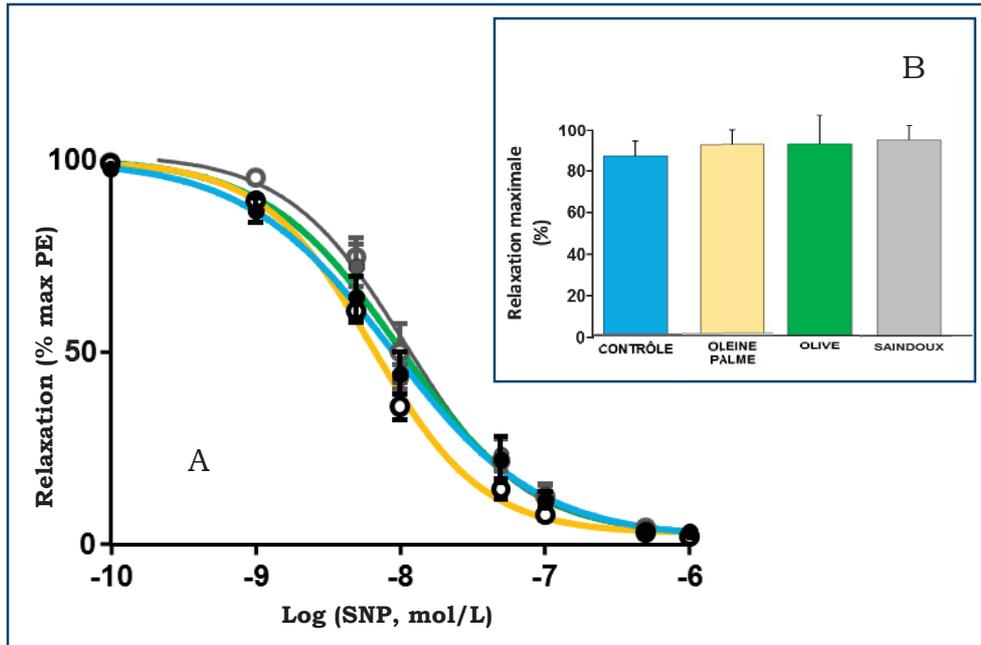


Figure 45: Relaxation indépendante de l'endothélium induite par SNP sur des anneaux aortiques pré-contractés par la phényléphrine. (A) Le graphique représente les courbes de réponse cumulatives à SNP (0,01-200  $\mu$ M). (B) L'histogramme représente la relaxation maximale obtenue pour chaque groupe.

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  ET. SNP : Nitroprussiate de sodium.

Aucune différence n'a été observée entre les régimes concernant la relaxation de l'aorte par l'acétylcholine et le SNP (*figures 45 et 46*).

### 6.3-DISCUSSION

Dans les modèles animaux, les anomalies de la réactivité vasculaire consistent principalement en une contractilité accrue et une vasodilatation réduite (Frisbee et Delp, 2006). Les régimes HFD de notre étude ont conduit à une augmentation du niveau maximum de contraction induit par l'agoniste alpha adrénergique phényléphrine. Cette dernière était significative ( $p = 0,036$ ) par rapport au contrôle avec le régime saindoux. La vasodilatation n'a pas été perturbée par les régimes de l'étude. Ce qui laisse penser que les régimes HFD n'ont pas entraîné une dysfonction endothéliale.

L'endothélium produit, de façon constitutive, du NO qui participe au tonus de base en induisant une relaxation (Furchgott et Zawadzki, 1980). En présence de L-NAME, qui est un inhibiteur de la NOS (Pfeiffer et *al.*, 1996), le tonus vasorelaxant du NO est supprimé et la réponse à la PhE est augmentée. L'effet du L-NAME a été significativement augmenté ( $p = 0,015$ ) par les régimes HFD, montrant que la participation du NO au tonus de base a été augmentée par ces régimes. Cette augmentation pourrait-être due soit à une augmentation de la production de NO par l'endothélium, soit à une augmentation de l'activité de la NOS. Nous n'avons pas observé de différence entre les régimes concernant la réponse à l'acétylcholine, suggérant l'absence de modifications de l'endothélium qui serait induites par les régimes. L'effet du L-NAME pourrait être alors dû à une augmentation d'une activité NOS qui ne serait pas d'origine endothéliale, par exemple, celle de la NOS inductible (iNOS).

Le KCL induit une dépolarisation des tissus et déclenche la contraction via l'activation de canaux voltage-dépendants (en particulier canaux calciques) et l'augmentation de calcium intracellulaire qui en découle. Nous avons observé une augmentation de la concentration effective maximale moyenne ( $EC_{50}$ ) de KCL avec les régimes huile d'olive et saindoux. Cette augmentation était significative ( $p = 0,03$ ) avec le saindoux par rapport aux régimes contrôle et oléine de palme. Ceci traduit une hyperpolarisation des tissus aortiques par l'huile d'olive et le saindoux.

Le dysfonctionnement observé au niveau de l'aorte des rats s'est traduit par une forte contraction et une hyperpolarisation induite par le régime saindoux. Cette dysfonction aortique pourrait entraîner à la longue, une rigidité artérielle avec comme conséquence l'hypertension artérielle (Chantler et Frisbee, 2015; Jia et *al.*, 2015). La modification de la fonction contractile de l'aorte par les régimes oléine de palme, huile d'olive et saindoux pourrait être influencée par le changement phénotypique du tissu adipeux péri-aortique (TAPA) induit par ces régimes (passage du TA brun au TA blanc) (Hamlat Khennaf et *al.*, 2014).

Nos résultats ont montré que tous les régimes HFD ont modifié la fonction contractile de l'aorte. Cette modification était plus importante avec le

régime saindoux (hyperpolarisation significative des tissus et sensibilité à L-NAME), modérée avec le régime huile d'olive (hyperpolarisation non significative des tissus et sensibilité à L-NAME) et légère avec l'oléine de palme (sensibilité à L-NAME). De ce point de vue, les effets vasculaires de l'huile de palme seraient moins délétères pour l'aorte que le saindoux et l'huile d'olive.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

Ce travail a permis pour la première fois de comparer dans une même étude les effets de la consommation de l'huile de palme rouge, de l'oléine de palme, de l'huile d'olive et du saindoux sur la santé.

Cette étude a montré que la consommation en excès de l'huile de palme (rouge ou oléine), de l'huile d'olive ou du saindoux favorise l'obésité. Cette prise de poids a touché certains organes dont le foie, le rein, le muscle soléaire et le tissu adipeux blanc, et a favorisé l'altération de la biogénèse mitochondriale avec pour conséquence l'altération de la fonction mitochondriale.

Tous les régimes (huile de palme rouge, oléine de palme, huile d'olive et saindoux) ont perturbé le métabolisme glucidique par la diminution de l'activation d'Akt musculaire, favorisant ainsi une insulino-résistance qui aura comme conséquence l'apparition d'un diabète de type 2.

Ces résultats montrent qu'un régime alimentaire trop riche en matière grasse, quelle que soit sa nature (AGS ou AGI) et son origine (animale ou végétale), favorise la prise de poids, l'insulino-résistance et le diabète de type 2.

En termes d'accumulation de lipide au niveau hépatique, il ressort de cette étude que l'huile d'olive est plus délétère pour le foie que l'huile de palme (rouge ou oléine) et le saindoux. D'autre part, le régime huile de palme rouge n'a pas d'effets délétères sur les tissus adipeux par contre les régimes oléine de palme, huile d'olive et saindoux influencent négativement ces tissus.

Cette étude qui est la première à comparer les effets antioxydants des composants mineurs de l'huile de palme à ceux de l'huile d'olive, a montré que la consommation de l'huile de palme sous sa forme brute (huile de palme rouge) ou raffinée (oléine de palme) induit un statut antioxydant superposable à celui induit par l'huile d'olive.

Malgré sa richesse en acides gras saturés, notamment en acide palmitique, qui est considéré comme pro-inflammatoire les résultats de cette étude montrent que l'huile de palme (rouge ou oléine) a plutôt des propriétés anti-inflammatoires et qu'elle induit un profil lipidique superposable à celui de l'huile d'olive, donc non athérogène. Par ailleurs, les études menées sur

l'aorte ont montré que les effets vasculaires de l'huile de palme seraient moins délétères pour l'aorte que le saindoux et l'huile d'olive.

Au vu des résultats de cette étude expérimentale et de ceux de la littérature, nous demandons à chaque lecteur de répondre objectivement aux questions suivantes :

- 1- Est-ce réellement pour des raisons nutritionnelles que l'huile de palme est montrée du doigt ?
- 2- Sur quelle base la mauvaise réputation de l'huile de palme repose-t-elle ?

## **PERSPECTIVES**

Les résultats de cette étude ouvrent plusieurs pistes d'explorations :

- Etant donné que la stéarine de palme (composée de 55-75 % d'AGS) est le produit de raffinage le plus consommé au monde, il serait intéressant de comparer les effets sur la santé de produits alimentaires à base d'huiles partiellement hydrogénées (riches en acides gras *trans*) ou à base de stéarine de palme pauvre en acides gras *trans*). Ceci permettrait de rassurer le consommateur dans le choix des produits avec ou sans huile de palme.
- Etant donné qu'une production défectueuse de CL de la mitochondrie du cœur est impliquée dans l'insuffisance cardiaque, la comparaison des effets de l'huile de palme à ceux de l'huile d'olive sur la teneur en PL notamment en CL des mitochondries du cœur et leur composition en AG pourrait renseigner sur le rôle cardio-protecteur ou non de l'huile de palme.
- Vu que la consommation de l'huile de palme améliore le statut antioxydant, et que le stress oxydant est impliqué dans la survenue de l'athérosclérose, il serait intéressant de mener une étude *in vivo* pour apprécier la capacité de l'huile de palme à prévenir ou atténuer la survenue d'athérosclérose, donc de MCV d'origine athéromateuse.

- Favoriser des études multicentriques par la mise en place d'axes communs de recherche entre le laboratoire de Biochimie de l'UFR des Sciences Médicales (Abidjan, Université Félix Houphouët-Boigny, Cocody) et le laboratoire de Biochimie de l'UFR Médecine (Université Montpellier).
- Communiquer, valoriser et promouvoir les résultats obtenus auprès des industriels de la filière, des professionnels de la santé, des populations, etc.

A l'issu de cette étude, des recommandations peuvent être faites :

***Au Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique de Côte d'Ivoire :***

- Soutenir les projets de recherche en nutrition appliquée à la santé.
- Proposer la mise en place d'un Institut Universitaire de Recherche clinique.
- Renforcer les différents axes de collaborations entre les Universités du Nord et du Sud

***Au Ministère de la santé et de l'hygiène publique de Côte d'Ivoire :***

- Afin de promouvoir la recherche dans les CHU, établir un cadre de collaboration de recherche entre les Universités et les CHU.

***Aux industriels de la filière huile de palme :***

- Créer une équipe de chercheurs qui réfléchirait sur des projets de valorisation de l'huile de palme.
- Soutenir les universitaires dans la réalisation de projets de recherche sur l'huile de palme.

- Aider à communiquer, valoriser et promouvoir les résultats des différentes recherches sur l'huile de palme auprès des professionnels de la santé et de la population.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abdelmalek MF, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease as a complication of insulin resistance. *Med Clin North Am* **2007**; 91: 1125–49.
- Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol.* **2010**; 2010: 476279.
- Adams PL, Lightowers RN, Turnbull DM. Molecular analysis of cytochrome c oxidase deficiency in Leigh's syndrome. *Ann Neurol* **1997**; 41(2): 268-270
- Ahn KS, Sethi G, Krishnan K, Aggarwal BB. Gamma-tocotrienol inhibits nuclear factor-kappaB signaling pathway through inhibition of receptor-interacting protein and TAK1 leading to suppression of antiapoptotic gene products and potentiation of apoptosis. *J Biol Chem.* **2007**; 282: 809–820.
- Ajuwon KM, Spurlock ME. Palmitate activates the NF-kappaB transcription factor and induces IL-6 and TNFalpha expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr.* **2005**; 135(8): 1841-6.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* **2006**; 23(5): 469-80.
- Alkhenizan A, Hafez K. The role of vitamin E in the prevention of cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Saudi Med* **2007**; 27: 409–414.
- Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic Determination of Total serum cholesterol. *Clin Chem.* **1974**, 20: 470-475.
- Allen RD. Membrane tubulation and proton pumps. *Protoplasma* **1995**; 189: 1-8
- Allen WM. A simple method for analyzing complicated absorption curves, of use in the colorimetric determination of urinary steroids. *J Clin Endocrinol Metab.* **1950**, 10: 71-83.
- Ambrosone CB, Freudenheim JL, Thompson PA, Bowman E, Vena JE,

- Marshall JR, Graham S, Laughlin R, Nemoto T, Shields PG. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res.* **1999**; 59(3): 602-6.
- Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **1981**; 78(11): 6858-6862.
- Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)*. **2005**; 70(2): 200-14.
- Anflous K, Blondel O, Bernard A, Khrestchatsky M, Ventura-Clapier R. Characterization of rat porin isoforms: cloning of a cardiac type-3 variant encoding an additional methionine at its putative N-terminal region. *Biochim Biophys Acta* **1998**; 1399: 47-50.
- ANSES. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Rapport d'expertise collective ANSES. Mai 2011; 323 p.
- Arain MA, Abdul Qadeer A. Systematic review on vitamin E and prevention of colorectal cancer. *Pak J Pharm Sci* **2010**; 23: 125-130.
- Arany Z, Lebrasseur N, Morris C, Smith E, Yang W, Ma Y, Chin S, Spiegelman BM. The transcriptional coactivator PGC-1beta drives the formation of oxidative type IIX fibers in skeletal muscle. *Cell Metab*, **2007**; 5: 35-46.
- Arbones-Mainar JM, Ross K, Rucklidge GJ, Reid M, Duncan G, Arthur JR, Horgan GW, Navarro MA, Carnicer R, Arnal C, Osada J, de Roos B. Extra virgin olive oils increase hepatic fat accumulation and hepatic antioxidant protein levels in APOE<sup>-/-</sup> mice. *J Proteome Res.* **2007**; 6(10): 4041-54.
- Ardail D, Privat JP, Egretcharlier M, Levrat C, Lerme F, Louisot P. Mitochondrial contact sites - lipid-composition and dynamics. *J Biol Chem* **1990**; 265: 18797-18802
- Arendt BM, Ma DW, Simons B, Noureldin SA, Therapondos G, Guindi M, Sherman M, Allard JP. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with lower hepatic and erythrocyte ratios of phosphatidylcholine to

- phosphatidylethanolamine. *Appl Physiol Nutr Metab.* **2013**; 38(3): 334-40.
- Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* **1975**; 15: 617–631.
- Asin-Cayuela J, Helm M, Attardi G. A monomer-to-trimer transition of the human mitochondrial transcription termination factor (mTERF) is associated with a loss of in vitro activity. *J. Biol. Chem.* **2004**; 279 (15): 15670–7
- Assy N, Nassar F, Nasser G, Grosovski M. Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* **2009**; 15: 1809-1815
- Atkin MA, Gasper A, Ullegaddi R, Powers HJ. Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants *in vitro* and to antioxidants supplementation. *Clin Chem*, **2005**; 51: 2138-2144.
- Aoun M, Feillet-Coudray C, Fouret G, Chabi B, Crouzier D, Ferreri C, Chatgililoglu C, Wrutniak-Cabello C, Cristol JP, Carbonneau MA, Coudray C. Rat liver mitochondrial membrane characteristics and mitochondrial functions are more profoundly altered by dietary lipid quantity than by dietary lipid quality: effect of different nutritional lipid patterns. *Br J Nutr.* **2012**; 107(5): 647-59.
- Aoun M, Fouret G, Michel F, Bonafos B, Ramos J, Cristol JP, Carbonneau MA, Coudray C, Feillet-Coudray C. Dietary fatty acids modulate liver mitochondrial cardiolipin content and its fatty acid composition in rats with non alcoholic fatty liver disease. *J Bioenerg Biomembr.* **2012**; 44(4): 439-52.
- Aranceta J, Perez-Rodrigo C. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: A systematic review. *Br. J. Nutr.* **2012**; 107: S8–S22.
- Ariyama H, Kono N, Matsuda ST, Inoue H. Decrease in membrane phospholipid unsaturation induces unfolded protein response. *J. Biol. Chem.* **2010**; 285: 22027–22035.
- Assmann G, Buono P, Daniele A, Della Valle E, Farinaro E, Ferns G, Krogh V,

Kromhout D, Masana L, Merino J. Functional foods and cardiometabolic diseases. International Task Force for Prevention of Cardiometabolic Diseases. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2014**; 24: 1272–1300.

Aubreville A. Les forêts du Dahomey et du Togo. *Bull. Comité d'Études Hist. et Scient. Afr. Occid. Fr.* **1937**; 20: 112 p.

Azlina MFN, Nafeera MI, Khalid BAK. Effect of tocotrienol on lipid peroxidation in experimental gastritis induced by restraint stress. *Pak. J. Nutr.* **2005**; 4: 69–72.

## **B**

---

Baillie-Hamilton PF. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *J Altern Complement Med* **2002**; 8(2): 185–192.

Balasundram N, Ai TY, Sambanthamurthi R, Sundram K, Samman S. Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pac J Clin Nutr* **2005**; 14: 319–324.

Baracca A, Sgarbi G, Solaini G, Lenaz G. Rhodamine 123 as a probe of mitochondrial membrane potential: evaluation of proton flux through F(0) during ATP synthesis. *Biochim Biophys Acta.* **2003**; 1606: 137–146.

Baranova EA, Holt PJ, Sazanov LA. Projection structure of the membrane domain of *Escherichia coli* respiratory complex I at 8 Å resolution. *J Mol Biol.* **2007**; 366(1): 140–54.

Bartsch H, Nair J, Owen RW. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: Emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis* **1999**; 20: 2209–2218.

Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* **2006**; 17(1): 4–12.

Bastard JP, Maachi M, Tran Van Nhieu J, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A,

- Robert JJ, Capeau J, Hainque B. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**; 87: 2084–2089.
- Baysal BE. Role of mitochondrial mutations in cancer. *Endocr Pathol* **2006**; 17(3): 203-212
- Beaudeau JL, Delattre J, Peynet J. Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires. In : Delattre J, Durand G, Jardillier JC, eds. *Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires*. Paris : Flammarion Médecine/Sciences, **2003** : 91-107.
- Bécard D, Hainault I, Azzout-Marniche D, Bertry-Coussot L, Ferré P, Fougère F. Adenovirus-mediated overexpression of sterol regulatory element binding protein-1c mimics insulin effects on hepatic gene expression and glucose homeostasis in diabetic mice. *Diabetes* **2001**; 50(11): 2425-2430.
- Bedoucha M, Atzpodien E, Boelsterli UA. Diabetic KKAY mice exhibit increased hepatic PPAR $\gamma$ 1 gene expression and develop hepatic steatosis upon chronic treatment with antidiabetic thiazolidinediones. *J Hepatol* **2001**; 35(1): 17-23.
- Beers RF, Sizer IW. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem.* **1952**; 195: 133-140.
- Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* **2003**; 31: 1441-1444.
- Bénil P, El-Khoury R, Schiff M, Sainsard-Chanet A, Rustin P. Genetic background influences mitochondrial function: modeling mitochondrial disease for therapeutic development. *Trends Mol Med.* **2010**; 16(5): 210-7.
- Bentinger M, Tekle M, Dallner G. Coenzyme Q-biosynthesis and functions. *Biochem Biophys Res* **2010**; 396(1): 74-79.
- Berger NA. Obesity and cancer pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* **2014**; 1311: 57–76.
- Berry EA, Guergova-Kuras M, Huang LS, Crofts AR. Structure and function of cytochrome bc complexes. *Annu Rev Biochem.* **2000**; 69: 1005-75.

- Bester D, Esterhuyse A, Truter EJ, van Rooyen J. Cardiovascular effects of edible oils: A comparison between four popular edible oils. *Nutr. Res. Rev.* **2010**; 23: 334–348.
- Beynen AC. Dietary Monounsaturated Fatty Acids and Liver Cholesterol. *Artery* **1988**; 15: 170-175.
- Beynen AC. Olive oil and liver cholesterol. *Am J Clin Nutr.* **1989**; 49: 392-394
- Bianchi C, Genova ML, Parenti CG, Lenaz G. The mitochondrial respiratory chain is partially organized in a supercomplex assembly: kinetic evidence using flux control analysis. *J.Biol.Chem.* **2004**; 279: 36562-36569.
- Bidoli E, Talamini R, Zucchetto A, Bosetti C, Negri E, Lenardon O. Dietary vitamins E and C and prostate cancer risk. *Acta Oncol* **2009**; 48: 890–894.
- Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* **2004**; 364: 1219–1228.
- Blaak EE. Fatty acid metabolism in obesity and type 2 diabetes mellitus. *The Proceedings of the Nutrition Society* **2003**; 62 (3): 753-760.
- Blaak EE. Metabolic fluxes in skeletal muscle in relation to obesity and insulin resistance. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* **2005**; 19 (3): 391-403.
- Black TM, Wang P, Maeda N, Coleman RA. Palm tocotrienols protect apoe +/- mice from diet-induced atheroma formation. *J Nutr* **2000**; 130: 2420-6.
- Block ML. NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *BMC. Neurosci.*, **2008**; 9 Suppl 2, S8.
- Bogenghagen DF. Interaction of mtTFB and mtRNA polymerase at core promoters for transcription of *Xenopus laevis* mtDNA. *J Biol Chem* **1996**; 271(20): 12036-12041.
- Boniface DR, Tefft ME. Dietary fats and 16-year coronary heart disease mortality in a cohort of men and women in Great Britain. *Eur J Clin Nutr.* **2002**; 56: 786-792.
- Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Met Care* **2002**; 5: 561-68.

- Borisov VB. Defects in mitochondrial respiratory complexes III and IV, and human pathologies. *Mol Aspects Med* **2002**; 23(5): 385-412.
- Boulvert Y. Carte phytogéographique de la République Centrafricaine (1/1.000.000e). Notice Explicative. ORSTOM, **1986**; 104.
- Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Pequignot E, Munnich A, Rotig A. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet* **1995**; 11(2): 144-149.
- Boushel R, Lundby C, Qvortrup K, Sahlin K. Mitochondrial plasticity with exercise training and extreme environments. *Exerc Sport Sci Rev*. **2014**; 42(4): 169-74.
- Boveris A, Oshino N, Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J* **1972**; 128: 617-630.
- Boyd NF, McGuire V. The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radic Biol Med*. **1991**; 10(3-4): 185-90.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. **1976**; 72: 248-254.
- Brady LJ, Brady PS, Romsos DR, Hoppel CL. Elevated hepatic mitochondrial and peroxisomal oxidative capacities in fed and starved adult obese (ob/ob) mice. *Biochem J* **1985**; 231(2): 439-444.
- Bravi F, Polesel J, Bosetti C, Talamini R, Negri E, Dal Maso L, Serraino D, La Vecchia C. Dietary intake of selected micronutrients and the risk of pancreatic cancer: an Italian case-control study. *Ann Oncol* **2011**; 22: 202-206.
- Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res*. **1999**; 31(6): 577-96.
- Briere JJ, Favier J, El Ghouzzi V, Djouadi F, Benit P, Gimenez AP, Rustin P. Succinate dehydrogenase deficiency in human. *Cell Mol Life Sci* **2005**; 62: 2317-2324
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetes complications. *Nature*, **2001**; 414: 813-20.
- Budin SB, Othman F, Louis SR, Bakar MA, Das S, Mohamed J. The effects of

- palm oil tocotrienol-rich fraction supplementation on biochemical parameters, oxidative stress and the vascular wall of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinics* **2009**; 64: 235–244.
- Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, Bollheimer LC. Defining high-fat-diet rat models : metabolic and molecular effects of different fat types. *J.Mol. Endocrinol.* **2006**; 36: 485–501.
- Burant CF, Sreenan S, Hirano K, Tai TA, Lohmiller J, Lukens J, Davidson NO, Ross S, Graves RA. Troglitazone action is independent of adipose tissue. *J Clin Invest* **1997**; 100(11): 2900-2908.
- Burke B, Neuenschwander E, Olson RRD. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of coenzyme q10 in isolated systolic hypertension. *South. Med. J.* **1994**; 94: 1112–1117.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes.* **2003**; 52(1): 102-10.
- Butterworth J, Yates CM, Reynolds GP. Distribution of phosphate-activated glutaminase, succinic dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase and gamma-glutamyl transpeptidase in post-mortem brain from Huntington's disease and agonal cases. *J Neurol Sci* **1985**; 67(2): 161-171.

## C

---

- Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget JP, Ravanat JL, Sauvaigo S. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res.* **1999**; 424: 9-21.
- Calhoun MW, Thomas JW, Gennis RB. The cytochrome oxidase superfamily of redox-driven proton pumps. *Trends Biochem Sci.* **1994**; 19(8): 325-30.
- Calvo S, Jain M, Xie X, Sheth SA, Chang B, Goldberger OA, Spinazzola A,

- Zeviani M, Carr SA, Mootha VK. Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics. *Nat. Genet.* **2006**; 38: 576–582.
- Canfield LM, Kaminsky RG. Red palm oil in the maternal diet improves the vitamin status of lactating mothers and their infants. *Food Nutr. Bull.* **2000**; 21: 144–148.
- Capeau J. Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *MEDECINE/SCIENCES* **2003**; 19 : 834-9
- Carillon J, Romain C, Bardy G, Fouret G, Feillet-Coudray C, Gaillet S, Lacan D, Cristol JP, Rouanet JM. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med.* **2013**; 65: 254-61.
- Cardozo LF, Pedruzzi LM, Stenvinkel P, Stockler-Pinto MB, Daleprane JB, Leite M, Jr. and Mafra D. Nutritional strategies to modulate inflammation and oxidative stress pathways via activation of the master antioxidant switch Nrf2. *Biochimie* **2013**; 95(8): 1525-1533.
- Carroll J, Fearnley IM, Skehel JM, Shannon RJ, Hirst J, Walker JE. Bovine complex I is a complex of 45 different subunits. *The Journal of Biological Chemistry* **2006**; 281 (43): 32724-32727.
- Carroll KK. Dietary fats and cancer. *Am J Clin Nutr* **1991**; 53: 1064S–1067S.
- Carter PJ, Taylor BJ, Williams SM, Taylor RW. Longitudinal analysis of sleep in relation to BMI and body fat in children: the FLAME study. *BMJ* **2011**; 342: d2712
- Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol.* **2011**; 73: 135-62.
- Cecchini G. Function and structure of complex II of the respiratory chain. *Annu Rev Biochem.* **2003**; 72: 77-109.
- Cefalu WT. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. *Exp Biol Med (Maywood).* **2001**; 226: 13-26.
- Chalasani N, Gorski JC, Asghar MS, Asghar A, Foresman B, Hall SD, Crabb

- DW. Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **2003**; 37(3): 544-550.
- Chance B. Reaction of oxygen with the respiratory chain in cells and tissues. *J Gen Physiol* **1965**; 49: 163-195.
- Chantler PD, Frisbee JC. Arterial function in cardio-metabolic diseases: from the microcirculation to the large conduits. *Prog Cardiovasc Dis* **2015**; 57: 489-96.
- Chao L, Marcus-Samuels B, Mason MM, Moitra J, Vinson C, Arioglu E, Gavrilova O, Reitman ML. Adipose tissue is required for the antidiabetic, but not for the hypolipidemic, effect of thiazolidinediones. *J Clin Invest* **2000**; 106(10): 1221-1228.
- Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Short sleep duration is associated with reduced leptin levels and increased adiposity: Results from the Quebec family study. *Obesity (Silver Spring)* **2007**; 15(1): 253-61.
- Chaput JP, Leblanc C, Pérusse L, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Risk factors for adult overweight and obesity in the Quebec Family Study: have we been barking up the wrong tree? *Obesity (Silver Spring)*. **2009**; 17(10): 1964-70.
- Chen X, Ding YW, Yang Gy, Bondoc F, Lee MJ, Yang CS. Oxidative damage in an esophageal adenocarcinoma model with rats. *Carcinogenesis* **2000**; 21: 257-263.
- Chiasson JL, Rabasa-Lhore R. Prevention of Type 2 Diabetes. *Diabetes*. **2004**; 53: S34-S38
- Chiesa R, Melissano G, Castellano R. L'augmentation des LDL oxydées constitue-t-elle un marqueur biologique de haut risque des plaques athéroscléreuses de la carotide ? *Ann Chir Vasc* **1998**; 12:1-9.
- Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* **2000**; 28: 1815-26.
- Choi JS, Koh IU, Jung MH, Song J. Effects of three different conjugated linoleic acid preparations on insulin signalling, fat oxidation and mitochondrial function in rats fed a high-fat diet. *Br J Nutr* **2007**; 98: 264-275.

- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* **1987**; 162: 156-9.
- Ciapaite J, Van den Broek NM, TeBrinke H, Nicolay K, Jeneson JA, Houten SM, Promper JJ. Differential effects of short-and long-term high-fat diet feeding on hepatic fatty acid metabolism in rats. *Biochim Biophys Acta.* **2011**; 1811: 441–451.
- Clandinin MT, Cook SL, Konrad SD, Goh YK, French MA. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels and endogenous cholesterol synthesis in hyperlipidemic subjects. *Lipids* **1999**; 34: S121–S124.
- Clandinin MT, Cook SL, Konrad SD, French MA. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2000**; 51: S61–S71.
- Clarke R, Frost C, Collins R, Appleby P, Peto R. Dietary lipids and blood cholesterol: Quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *BMJ* **1997**; 314: 112–117.
- Clayton WD. Derived savanna in Kabba Province. *Nigeria. J. Ecology.* **1961**; 49: 595-604.
- Clément K, Vaisse C, Manning BS, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, Silver KD, Shuldiner AR, Froguel P, Strosberg AD. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med.* **1995**; 333(6): 352-4.
- Čmolík J, Pokorný J. Physical refining of edible oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2000**; 102: 472–486.
- Collino M, Mastrocola R, Nigro D, Chiazza F, Aragno M, D'Antona G, Minetto MA. Variability in myosteatosis and insulin resistance induced by high-fat diet in mouse skeletal muscles. *Biomed Res Int.* **2014**; 2014: 569623
- Colombo C, Cutson JJ, Yamauchi T, Vinson C, Kadowaki T, Gavrilova O, Reitman ML. Transplantation of adipose tissue lacking leptin is unable to reverse the metabolic abnormalities associated with lipoatrophy. *Diabetes.* **2002**; 51(9): 2727-33.
- Comhair SA, Erzurum SC. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* **2002**; 283(2): L246-55.

- Consitt LA, Bell JA, Houmard JA. Intramuscular lipid metabolism, insulin action, and obesity. *IUBMB Life* **2009**; 61: 47-55.
- Cooke AA, Connaughton RM, Lyons CL, McMorrow AM, Roche HM. Fatty acids and chronic low grade inflammation associated with obesity and the metabolic syndrome. *Eur J Pharmacol.* **2016**; 785: 207-14
- Cooney GJ, Thompson AL, Furler SM, Ye J, Kraegen EW. Muscle long-chain acyl CoA esters and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci* **2002**; 967: 196-07.
- Coppack SW. Adipose tissue changes in obesity. *Biochem Soc Trans.* **2005**; 33: 1049-52.
- Corley RHV. The genus *Elaeis*. In (eds. Corley RHV, Hardon JJ and Wood BJ). Oil Palm Research. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands. **1976**; 3-5.
- Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, Schauer PR. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes. Surg.* **2004**; 14: 589–600.
- Cottrell RC. Introduction: nutritional aspects of palm oil. *Am J Clin Nutr* **1991**; 53: 989S-1009S.
- Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, Lamarche B, Bergeron N. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* **2005**; 90(12): 6454-9
- Covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* **2006a**; 145: 333e41.
- Covas Mi R-GV, de la Torre R, Kafatos A, Lamuela-Raventó's RM, Osada J. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutr Rev* **2006b**; 64(Suppl. 1): 20e30.
- Crofts AR. The cytochrome bc1 complex: function in the context of structure. *Annu Rev Physiol.* **2004**; 66: 689-733.
- Cruciat CM, Brunner S, Baumann F, Neupert W, Stuart RA. The cytochrome

bc1 and cytochrome c oxidase complexes associate to form a single supracomplex in yeast mitochondria. *J.Biol.Chem.* **2000**; 275: 18093-18098.

Cunningham JM, Green IC. Cytokines, nitricoxide and insulin secreting cells. *G Reg*, **1994**; 4: 173-180.

## D

---

Daga A, Micol V, Hess D, Aebersold R, Attardi G. Molecular characterization of the transcription termination factor from human mitochondria. *J. Biol. Chem.* **1993**; 268 (11): 8123-30

Damianaki A, Bakogeorgou E, Kampa M, Notas G, Hatzoglou A, Panagiotou S, Gemetzi C, Kouroumalis E, Martin PM, Castanas E. Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells. *J Cell Biochem* **2000**; 78(3): 429-441.

De Almeida IT, Cortez-Pinto H, Fidalgo G, Rodrigues D, Camilo ME. Plasma total and free fatty acids composition in human non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Nutr* **2002**; 21(3): 219-23.

De Berchoux C, Jacquemard JC, Kovane MB, Lecoustre R. Croissance et développement du palmier à huile. Chapitre III. Morphologie de la croissance et du développement des différents organes du palmier à huile en plantation.. *La Mé : CIRAD-IRHO*, **1986**; 151 p

De Leiris J, Boucher F, Tanguy S. Conversion de l'énergie chimique des plantes en énergie musculaire. Grenoble: *Encyclopédie de l'énergie* **2015** ; 19 p. Disponible sur : <http://encyclopedie-energie.org/articles/conversion-de-l%E2%80%99%C3%A9nergie-chimique-des-plantes-en-%C3%A9nergie-musculaire>. (consulté le 30/08/2017)

De Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* **2008**; 582(1): 97-105.

Defraigne JO. Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète ? *Rev Med Liege*, **2005**; 60: 472-478.

Defraigne J, Pincemail C. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités.

- Rev Med Liège*. **2008**; 63: 10-19.
- Delattre J, Bonnefont-Rousselot D, Bordas-Fonfrede M, Jaudon MC. Diabète sucré et stress oxydant. *Ann Biol Clin*, **1999**; 57: 437-44.
- Dentin R, Pégorier JP, Benhamed F, Foufelle F, Ferré P, Fauveau V, Magnuson MA, Girard J, Postic C. Hepatic glucokinase is required for the synergistic action of ChREBP and SREBP-1c on glycolytic and lipogenic gene expression. *J Biol Chem* **2004**; 279(19): 20314-20326.
- Dentin R, Benhamed F, Hainault I, Fauveau V, Foufelle F, Dyck JR, Girard J, Postic C. Liver-specific inhibition of ChREBP improves hepatic steatosis and insulin resistance in ob/ob mice. *Diabetes* **2006**; 55(8): 2159-2170.
- Denton RM, Tavaré JM. Molecular basis of insulin action on intracellular metabolism. In: Alberti KGMM, Zimmet P, Defronzo RA, Keen H (Hon), editors. International Textbook of Diabetes Mellitus (2nd ed) John Wiley & Sons, New York; **1997**; 469-88.
- Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. **2006**; 444(7121): 881-7.
- Detaille D, Guigas B, Leverve X, Wiernsperger NF, Devos P. Obligatory role of membrane events in the regulatory effect of metformin on the respiratory chain function. *Biochem Pharmacol.*, **2002**; 63: 1259-127.
- Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and pro-coagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am*. **2004**; 33: 431-53.
- Di Minno MN, Russolillo A, Lupoli R, Ambrosino P, Di Minno A, Tarantino G. Omega-3 fatty acids for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* **2012**; 18: 5839-5847.
- Diakogiannaki E, Welters HJ, Morgan NG. Differential regulation of the endoplasmic reticulum stress response in pancreatic beta-cells exposed to long-chain saturated and monounsaturated fatty acids. *J. Endocrinol.* **2008**; 197: 553-563.
- Dimroth P, Kaim G, Matthey U. Crucial role of the membrane potential for ATP synthesis by F(1)F(o) ATP synthases. *J Exp Biol* **2000**; 203(1): 51-59.
- Ding Y, Yao H, Yao Y, Fai LY, Zhang Z. Protection of dietary polyphenols

- against oral cancer. *Nutrients* **2013**; 5(6): 2173-2191.
- Diraison F, Moulin P, Beylot M. Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab* **2003**; 29(5): 478-485.
- Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* **2005**; 115(5): 1343-1351.
- Dorn GW, Vega RB, Kelly DP. Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart. *Genes Dev.* **2015**; 29 (19): 1981–91
- Doumbia F. Étude des Forêts de Basse Casamance au sud de Ziguinchor. *Ann. Fac. Sc. Dakar* **1966**; 19: 61-100.
- Dreon DM, Fernstrom HA, Campos H, Blanche P, Williams PT, Krauss RM. Change in dietary saturated fat intake is correlated with change in mass of large low-densitylipoprotein particles in men. *Am J Clin Nutr* **1998**; 67: 828-36.
- Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT, Krauss RM. A very low-fat diet is not associated with improved lipoprotein profiles in men with a predominance of large, lowdensity lipoproteins. *Am J Clin Nutr* **1999**; 69: 411-8.
- Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT, Krauss RM. Reduced ldl particle size in children consuming a very-low-fat diet is related to parental ldl-subclass patterns. *Am J Clin Nutr* **2000**; 71: 1611-6.
- Dries DR, Gallegos LL, Newton AC. A single residue in the c1 domain sensitizes novel protein kinase C isoforms to cellular diacylglycerol production. *J Biol Chem* **2007**; 282: 826–30.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* **2002**; 82: 47-95
- Dronne Y, Forslund A. Le rôle croissant des huiles tropicales sur les marchés Internationaux : principaux acteurs et produits. *OCL* **2009**; 16 (4): 184-192.

- Dröse S, Zwicker K, Brandt U. Full recovery of the NADH: ubiquinone activity of complex I (NADH: ubiquinone oxidoreductase) from *Yarrowia lipolytica* by the addition of phospholipids. *Biochim Biophys Acta* **2002**; 1556: 65–72.
- Du Plessis L, Meredith A. Palm olein quality parameter changes during industrial production of potato chips. *JAOCs* **1999**; 76: 731-8.
- Duchen MR. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med* **2004**; 25: 365-451.
- Dudkina NV, Kudryashev M, Stahlberg H, Boekema EJ. Interaction of complexes I, III, and IV within the bovine respirasome by single particle cryoelectron tomography. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2011**; 108(37): 15196-200.
- Dudkina NV, Sunderhaus S, Boekema EJ, Braun HP. The higher level of organization of the oxidative phosphorylation system: mitochondrial supercomplexes. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2008**; 40: 419-424.
- Dufour M. Regard d'expert sur l'huile de palme. Mirova, **2014**; 17p.
- Dunford NT. Advancements in oil and oilseed processing. *In Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing*; John Wiley and Sons Inc.: Ames, IA, USA, **2012**; 115–143.

## **E**

---

- Ebihara K, Ogawa Y, Masuzaki H, Shintani M, Miyanaga F, Aizawa-Abe M, Hayashi T, Hosoda K, Inoue G, Yoshimasa Y, Gavrilova O, Reitman ML, Nakao K. Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipotrophic diabetes. *Diabetes* **2001**; 50: 1440–1448.
- Eble KS, Coleman WB, Hantgan RR, Cunningham CC. Tightly associated cardiolipin in the bovine heart mitochondrial ATP synthase as analyzed by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Biol. Chem.* **1990**; 265: 19434–19440.
- Edem DO. Palm Oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological,

- and toxicological aspects: A review. *Plant. Foods Hum. Nutr.* **2002**; 57: 319–341.
- Edery P, Gerard B, Chretien D, Rotig A, Cerrone R, Rabier D, Rambaud C, Fabre M, Saudubray JM, Munnich A. Liver cytochrome c oxidase deficiency in a case of neonatal-onset hepatic failure. *Eur J Pediatr* **1994**; 153(3): 190-194.
- Egner A, Jakobs S, Hell SW. Fast 100-nm resolution three-dimensional microscope reveals structural plasticity of mitochondria in live yeast. *Proc Natl Acad Sci USA.* **2002**; 99: 3370-3375
- Ekstrand MI, Falkenberg M, Rantanen A, Park CB, Gaspari M, Hultenby K, Rustin P, Gustafsson CM, Larsson NG. Mitochondrial transcription factor A regulates mtDNA copy number in mammals. *Hum Mol Genet* **2004**; 13(9): 935-944.
- El-Badry AM, Graf R, Clavien PA. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? *J Hepatol* **2007**; 47: 718-725
- Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D, Hilton D, Van Obberghen E. SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J Biol Chem* **2000**; 275(21): 15985-15991.
- Enos RT, Davis JM, Velazquez KT, McClellan JL, Day SD. Influence of dietary saturated fat content on adiposity, macrophage behavior, inflammation and metabolism: composition matters. *J Lipid Res.* **2013**; 54: 152–163.
- Ergo AB. Nouvelle évidence de l'origine africaine de l'*Elaeis guineensis* Jacq. par la découverte de graines fossiles en Uganda. *Ann. Gembloux.* **1997**; 102: 191-201.
- Escrich E, Solanas M, Moral R, Costa I, Grau L. Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence. *Clin Transl Oncol.* **2006**; 8: 868–883.
- Esrey KL, Joseph L, Grover SA. Relationship between dietary intake and coronary heart disease mortality: lipid research clinics prevalence follow-up study. *J Clin Epidemiol*, **1996**; 49: 211-216.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.* **1992**; 13(4): 341-90.

Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI. Effects of a Mediterranean style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* **2006**; 145: 1e11.

## **F**

---

Fairhead J, Leach M. False forest history, complicit social analysis: rethinking some west African environmental narratives. *World Development*. **1995**; 23: 1023-1035.

Fajas L, Schoonjans K, Gelman L, Kim JB, Najib J, Martin G, Fruchart JC, Briggs M, Spiegelman BM, Auwerx J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism. *Mol Cell Biol* **1999**; 19(8): 5495-5503.

Falkenberg M, Gaspari M, Rantanen A, Trifunovic A, Larsson NG, Gustafsson CM. Mitochondrial transcription factors B1 and B2 activate transcription of human mtDNA. *Nat Genet* **2002**; 31(3): 289-294.

Fattore E, Fanelli R. Palm oil and palmitic acid: A review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**; 64: 648–659.

Fattore E, Bosetti C, Brighenti F, Agostoni C, Fattore G. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. *Am. J. Clin. Nutr.* **2014**; 99: 1331–1350.

Favé G, Coste TC, Armand M. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability. *Cell. Mol. Biol.* **2004**; 50: 815–831.

Fedeli E, Lanzani A, Capella P, Jacini G. Triterpene alcohols and sterols of vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc* **1966**; 43: 254–6.

Feillet-Coudray C, Aoun M, Fouret G, Bonafos B, Ramos J, Casas F, Cristol JP, Coudray C. Effects of long-term administration of saturated and n-3 fatty acid-rich diets on lipid utilisation and oxidative stress in rat liver and muscle tissues. *Br J Nutr.* **2013**; 110(10): 1789-802.

- Feillet-Coudray C, Fouret G, Ebabe Elle R, Rieusset J, Bonafos B, Chabi B, Crouzier D, Zarkovic K, Zarkovic N, Ramos J, Badia E, Murphy MP, Cristol JP, Coudray C. The mitochondrial-targeted antioxidant MitoQ ameliorates metabolic syndrome features in obesogenic diet-fed rats better than Apocynin or Allopurinol. *Free Radic Res.* **2014**; 48(10): 1232-46.
- Feng Z, Hu W, Amin S, Tang MS. Mutational spectrum and genotoxicity of the major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, induced DNA adducts in nucleotide excision repair-proficient and -deficient human cells. *iochemistry.* **2003**; 42(25): 7848-54.
- Fernandez-Vizarra E, Tiranti V, Zeviani M. Assembly of the oxidative phosphorylation system in humans: what we have learned by studying its defects. *Biochim Biophys Acta.* **2009**; 1793: 200-211.
- Ferramosca A, Savy V, Zara V. Olive oil increases the hepatic triacylglycerol content in mice by a distinct influence on the synthesis and oxidation of fatty acids. *Biosci Biotechnol Biochem* **2008**; 72: 62-69.
- Festa A, Williams K, Hanley AJ, Haffner SM. Beta-cell dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and early type 2 diabetes: comparison of surrogate markers with first-phase insulin secretion from an intravenous glucose tolerance test. *Diabetes.* **2008**; 57(6): 1638-44.
- Finegood DT, McArthur MD, Kojwang D, Thomas MJ, Topp BG, Leonard T, Buckingham RE. Beta-cell mass dynamics in Zucker diabetic fatty rats. Rosiglitazone prevents the rise in net cell death. *Diabetes.* **2001**; 50(5): 1021-9.
- Flamment M, Rieusset J, Vidal H, Simard G, Malthiery Y. Regulation of hepatic mitochondrial metabolism in response to a high fat diet: a longitudinal study in rats. *J Physiol Biochem.* **2012**; 68: 335-344.
- Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* **1984**; 105: 114-121.
- Floyd RA, Watson JJ, Wong PK, Altmiller DH, Rickard RC. Hydroxyl free radical adduct of deoxyguanosine: sensitive detection and mechanisms of formation. *Free Radic Res Commun* **1986**; 1: 163-172.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and

- purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* **1957**; 226(1): 497-509.
- Folli F, Saad MJ, Backer JM, Kahn CR. Regulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity in liver and muscle of animal models of insulin-resistant and insulin-deficient diabetes mellitus. *J Clin Invest* **1993**; 92: 1787–94.
- Forouhi NG, Koulman A, Sharp SJ, Imamura F, Kröger J, Schulze MB. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: The EPIC-InterAct case-cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2014**; 2: 810–818.
- Forsythe CE, Phinney SD, Feinman RD, Volk BM, Freidenreich D, Quann E, Ballard K, Puglisi MJ, Maresh CM, Kraemer WJ, Bibus DM, Fernandez ML, Volek JS. Limited effect of dietary saturated fat on plasma saturated fat in the context of a low carbohydrate diet. *Lipids* **2010**; 45: 947-62.
- Fossati P, Prencipe L. Serum Triglycerides Determined Colorimetrically with an Enzyme that Produces Hydrogen Peroxide. *Clin Chem.* **1982**; 28: 2077-2080.
- Fouret G, Tolika E, Lecomte J, Bonafos B, Aoun M, Murphy MP, Ferreri C, Chatgililoglu C, Dubreucq E, Coudray C, Feillet-Coudray C. The mitochondrial-targeted antioxidant, MitoQ, increases liver mitochondrial cardiolipin content in obesogenic diet-fed rats. *Biochim Biophys Acta.* **2015**; 1847(10): 1025-35.
- Franko A, von Kleist-Retzow JC, Neschen S, Wu M, Schommers P. Liver adapts mitochondrial function to insulin resistant and diabetic states in mice. *J Hepatol.* **2014**; 60: 816–823.
- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* **2007**; 316(5826): 889-94.
- French MT, Norton EC, Fang H, Maclean JC. Alcohol consumption and body weight. *Health Economics* **2010**; 19(7): 814–32
- Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends*

- BiochemSci* **2000**; 25: 319-324
- Frezza C, Cipolat S, Scorrano L. Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts. *Nat Protoc.* **2007**; 2: 287-295.
- Fried SK, Bunkin DA, Grennberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1998**; 83: 847–850.
- Friedrich T, Böttcher B. The gross structure of the respiratory complex I: a Lego System. *Biochim Biophys Acta.* **2004**; 1608(1): 1-9.
- Frisbee JC, Delp MD. Vascular function in the metabolic syndrome and the effects on skeletal muscle perfusion: lessons from the obese Zucker rat. *Essays Biochem* **2006**; 42: 145-61.
- Fry M, Green DE. Cardiolipin requirement for electron transfer in complex I and III of the mitochondrial respiratory chain. *J Biol Chem.* **1981**; 256: 1874–1880.
- Fujimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, Chen KW, Leonetti DL, Newell-Morris L, Shofer JB, Wahl PW. Visceral adiposity and incident coronary heart disease in Japanese-American men. The 10-year follow-up results of the Seattle Japanese-American Community Diabetes Study. *Diabetes Care.* **1999**; 22(11): 1808-12
- Fukushima T, Decker RV, Anderson WM, Spivey HO. Substrate channeling of NADH and binding of dehydrogenases to complex I. *The Journal of Biological Chemistry* **1989**; 264 (28): 16483-16488.
- Fulan H, Changxing J, Baina WY, Wencui Z, Chunqing L, Fan W. Retinol, vitamins A, C, and E and breast cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Cancer Causes Control* **2011**; 22: 1383–1396.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* **1980**; 288: 373–376.

- Gavrilova O, Haluzik M, Matsusue K, Cutson JJ, Johnson L, Dietz KR, Nicol CJ, Vinson C, Gonzalez FJ, Reitman ML. Liver peroxisome proliferator-activated receptor gamma contributes to hepatic steatosis, triglyceride clearance, and regulation of body fat mass. *J Biol Chem* **2003**; 278(36): 34268-34276.
- Ge Y, Elghetany MT. CD36: a multiligand molecule. *Lab Hematol.* **2005**; 11(1): 31-7.
- Gebert N, Joshi AS, Kutik S, Becker T, McKenzie M, Guan XL, Mooga VP, Stroud DA, Kulkarni G, Wenk MR, Rehling P, Meisinger C, Ryan MT, Wiedemann N, Greenberg ML, Pfanner N. Mitochondrial Cardiolipin Involved in Outer-Membrane Protein Biogenesis: Implications for Barth Syndrome. *Curr Biol* **2009**; 19: 2133-2139
- Ghedira K. Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie.* **2005**; 3(4): 162-169.
- Gilkerson RW, Selker JM, Capaldi RA. The cristal membrane of mitochondria is the principal site of oxidative phosphorylation. *FEBS Lett* **2003**; 546(2-3): 355-358.
- Gill H, Mugo M, Whaley-Connell A, Stump C, Sowers JR. The key role of insulin resistance in the cardiometabolic syndrome. *The American Journal of the Medical Sciences* **2005**; 330 (6): 290-294.
- Gillery P. Produits avancés de glycation (AGE), radicaux libres et diabète. *J Soc Biol*, **2001**; 195 : 387-390.
- Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Rustin P, Mourad JJ, Plouin PF, Corvol P, Rotig A, Jeunemaitre X. The R22X mutation of the SDHD gene in hereditary paraganglioma abolishes the enzymatic activity of complex II in the mitochondrial respiratory chain and activates the hypoxia pathway. *Am J Hum Genet* **2001**; 69(6): 1186-1197
- Girard J, Ferré P, Foufelle F. Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annu Rev Nutr* **1997**; 17: 325-52
- Girard J, Lafontan M. Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism

- and insulin resistance. Part II: Visceral adipose tissue production and liver metabolism. *Diabetes Metab* **2008**; 34(5): 439-445.
- Giugliano D, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diab Care*, **1996**; 19: 257-67.
- Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A. Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic disease. *Physiol Rev.* **2010**; 90: 367-417.
- Gleyzer N, Vercauteren K, Scarpulla RC. Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. *Mol. Cell Biol.* **2005**; 25: 1354-1366.
- Gomez BJr, Robinson NC. Phospholipase digestion of bound cardiolipin reversibly inactivates bovine cytochrome bc1. *Biochemistry.* **1999**; 38(28): 9031-8.
- Greenleaf AL, Kelly JL, Lehman IR. Yeast RPO41 gene product is required for transcription and maintenance of the mitochondrial genome. *Proc Natl Acad Sci USA* **1986**; 83(10): 3391-3394.
- Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem.* **1980**; 106: 207-12.
- Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2002**; 5: 551-559.
- Grochot-Przeczek A, Dulak J, Jozkowicz A. Haem oxygenase-1: non-canonical roles in physiology and pathology. *Clin Sci (Lond)* **2012**; 122(3): 93-103.
- Grover GJ, Marone PA, Koetzner L, Seto-Young D. Energetic signalling in the control of mitochondrial F1F0 ATP synthase activity in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, **2008**; 40: 2698-2701.
- Grundy SM. What is the contribution of obesity to the metabolic syndrome? *Endocrinol Metab Clin North Am.* **2004**; 33: 267-82.
- Gulcin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* **2012**; 86(3): 345-391.
- Gulick T, Cresci S, Caira T, Moore DD, Kelly DP. The peroxisome

proliferator-activated receptor regulates mitochondrial fatty acid oxidative enzyme gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* **1994**; 91(23): 11012-11016.

Gunstone FD. *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*, 2nd ed.; Blackwell Publishing Ltd.: West Essex, UK, **2011**; pp. 25–133.

## **H**

---

Haber F, Weiss J. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. *Proc R Soc Lond A*, **1934**; 147(861): 332-351.

Hajishengallis G, Chavakis T. Endogenous modulators of inflammatory cell recruitment. *Trends Immunol.* **2013**; 34(1): 1-6.

Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. Le stress oxydant. *Rev Med Liege* **2007**; 62: 628-638.

Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* **1990**; 280(1): 1-8.

Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* **1996**; 16: 33-50.

Hamlat Khennaf N, Neggazi S, Feugier P, Bricca G, Aouichat-Bouguerra S, Beylot M. Inflammation dans le tissu adipeux périvasculaire et athérome. *Diabetes Metabolic* **2014**; 40(suppl 1): P176

Hansen LL, Ikeda Y, Olsen GS. Insulin signalling is inhibited by micromolar concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Evidence for a role H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance. *J Biol Chem*, **1999**; 274: 25078-25084.

Hardy S, Langelier Y, Prentki M. Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. *Cancer Res.* **2000**; 60: 6353–6358.

Hare J. Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*, **2004**; 351: 2112-2114.

Harner M, Korner C, Walther D, Mokranjac D, Kaesmacher J, Welsch U,

- Griffith J, Mann M, Reggiori F, Neupert W. The mitochondrial contact site complex, a determinant of mitochondrial architecture. *Embo J* **2011**; 30: 4356-4370
- Hartley CWS. The oil palm *Elaeis guineensis* jacq. Tropical Agriculture **1977**; serie 2. 1. P. 806.
- Hathaway CA, Heistad DD, Piegors DJ, Miller FJ Jr. Regression of atherosclerosis in monkeys reduces vascular superoxide levels. *Circ Res.* **2002**; 90(3): 277-83.
- Hayase F, Shibuya T, Sato J, Yamamoto M. Effects of oxygen and transition metals on the advanced Maillard reaction of proteins with glucose. *Biosci Biotechnol Biochem.* **1996**; 60(11): 1820-5.
- Hayashi S, Omata Y, Sakamoto H, Higashimoto Y, Hara T, Sagara Y, Noguchi M. Characterization of rat heme oxygenase-3 gene. Implication of processed pseudogenes derived from heme oxygenase-2 gene. *Gene* **2004**; 336(2): 241-250.
- Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* **1997**; 8: 268-74.
- Heinemeyer J, Braun HP, Boekema EJ, Kouril R. A structural model of the cytochrome C reductase/oxidase supercomplex from yeast mitochondria. *J Biol Chem.* **2007**; 282(16): 12240-8.
- Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol.* **1999**; 300: 156-66.
- Herlein JA, Fink BD, Sivitz WI. Superoxide production by mitochondria of insulin-sensitive tissues: mechanistic differences and effect of early diabetes. *Metabolism.* **2010**; 59: 247-257.
- Hermizi H, Faizah O, Ima-Nirwana S. Beneficial effects of tocotrienol and tocopherol on bone histomorphometric parameters in Sprague-Dawley male rats after nicotine cessation. *Calcif. Tissue Int.* **2009**; 84: 65-74.
- Hernandez R, Martinez-Lara E, Canuelo A, del Moral ML, Blanco S. Steatosis recovery after treatment with a balanced sunflower or olive oil-based diet: involvement of perisinusoidal stellate cells. *World J. Gastroenterol.* **2005**; 11: 7480-7485.

- Hirst J. Energy transduction by respiratory complex I—an evaluation of current knowledge. *Biochem Soc Trans.* **2005**; 33(3): 525-9.
- Hock MB, Kralli A. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. *Annu Rev Physiol.* **2009**; 71: 177-203.
- Hockenberry MJ, Taylor OA, Gundy PM, Ross AK, Pasvogel A, Montgomery D, Ribbeck P, McCarthy K, Moore I. F2-isoprostanes: a measure of oxidative stress in children receiving treatment for leukemia. *Biol Res Nurs.* **2014**; 16(3): 303-9.
- Hoeks J, Hesselink MK, Russell AP, Mensink M, Saris WH, Mensink RP, Schrauwen P. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and insulin resistance: acute effect of fatty acids. *Diabetologia.* **2006**; 49(10): 2419-26.
- Hoffmann HP, Avers CJ. Mitochondrion of yeast: ultrastructural evidence for one giant, branched organelle per cell. *Science (New York, NY)* **1973**; 181: 749-751
- Holt IJ, Harding AE, Cooper JM, Schapira AH, Toscano A, Clark JB, Morgan-Hughes JA. Mitochondrial myopathies: clinical and biochemical features of 30 patients with major deletions of muscle mitochondrial DNA. *Ann Neurol* **1989**; 26(6): 699-708.
- Hornstra G. Dietary lipids and cardiovascular disease: effects of palm oil. *Oleagineux* **1988**; 43 : 75-87.
- Horsefield R, Iwata S, Byrne B. Complex II from a structural perspective. *Curr Protein Pept Sci.* **2004**; 5(2): 107-18.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity linked insulin resistance. *Science* **1993**; 259: 87-91.
- Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* **1996**; 271: 665-668.
- Howard BV, Van Horn L, Hsia J, Manson JE, Stefanick ML, Wassertheil-Smoller S, Kuller LH, LaCroix AZ, Langer RD, Lasser NL, Lewis CE,

- Limacher MC. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the women's health initiative randomized controlled dietary modification trial. *JAMA* **2006** ; 295 : 655-66.
- Hozawa A, Jacobs DR, Steffes MW, Gross MD, Steffen LM, Lee D-H. Relationships of Circulating Carotenoid Concentrations with Several Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clin chem.* **2007**; 53(3): 447-455.
- Hsu TC, Young MR, Cmarik J, Colburn NH. Activator protein 1 (AP-1)- and nuclear factor kappaB (NF-kappaB)-dependent transcriptional events in carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* **2000**; 28(9): 1338-1348.
- Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr*, **1999**; 70:1001-1008.
- Hudson BI, Wendt T, Bucciarelli LG, Rong LL, Naka Y, Yan SF, Schmidt AM. Diabetic vascular disease: it's all the RAGE. *Antioxid Redox Signal*, **2005**; 7: 1588-1600.
- Hunte C, Koepke J, Lange C, Rossmann T, Michel H. Structure at 2.3 Å resolution of the cytochrome bc(1) complex from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cocrystallized with an antibody Fv fragment. *Structure* **2000**; 8(6): 669-684.
- Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. *Am J Med.* **1998**; 105: 331-45.
- Huss JM, Kelly DP. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res* **2004**; 95(6): 568-578.
- Huss JM, Kopp RP, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1alpha (PGC-1alpha) coactivates the cardiac-enriched nuclear receptors estrogen-related receptor-alpha and -gamma. Identification of novel leucine-rich interaction motif within PGC-1alpha. *J Biol Chem* **2002**; 277(43): 40265-40274.
- Hwang YC, Fujimoto WY, Hayashi T, Kahn SE, Leonetti DL, Boyko EJ.

Increased Visceral Adipose Tissue Is an Independent Predictor for Future Development of Atherogenic Dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.* **2016**; 101(2): 678-85.

## I

---

- Ibdah JA, Perlegas P, Zhao Y, Angdisen J, Borgerink H, Shadoan MK, Wagner JD, Matern D, Rinaldo P, Cline JM. Mice heterozygous for a defect in mitochondrial trifunctional protein develop hepatic steatosis and insulin resistance. *Gastroenterology* **2005**; 128: 1381–1390.
- Iizuka K, Bruick RK, Liang G, Horton JD, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**; 101(19): 7281-7286.
- Iizuka K, Miller B, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate-activated transcription factor ChREBP prevents obesity and improves plasma glucose control in leptindeficient (ob/ob) mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2006**; 291(2): E358-364.
- Ima Nirwana S, Wang M, Roshayati AB, Nursyahrina AH. Palm tocotrienol supplementation enhanced bone formation in oestrogen-deficient rats. *Int. J. Endocrinol.* **2012**; 2012: 532862.
- Indrasti D, Che Man YB, Mustafa S, Hashim DM. Lard detection based on fatty acids profile using comprehensive gas chromatography hyphenated with time-of-flight mass spectrometry. *Food Chemistry* **2010**; 122: 1273 - 1277.
- Inoue M, Ohtake T, Motomura W, Takahashi N, Hosoki Y, Miyoshi S, Suzuki Y, Saito H, Kohgo Y, Okumura T. Increased expression of PPARgamma in high fat dietinduced liver steatosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**; 336(1): 215-222.
- Iqbal MP. Trans fatty acids – a risk factor for cardiovascular disease. *Pak J Med Sci* **2014**; 30(1): 194-197.
- Ishii S, Iizuka K, Miller BC, Uyeda K. Carbohydrate response element binding protein directly promotes lipogenic enzyme gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**; 101(44): 15597-15602.

- Ishii M, Maeda A, Tani S, Akagawa M. Palmitate induces insulin resistance in human HepG2 hepatocytes by enhancing ubiquitination and proteasomal degradation of key insulin signaling molecules. *Arch. Biochem. Biophys.* **2015**; 566: 26–35.
- Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, Nakada K, Honma Y, Hayashi J. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science*, **2008**; 320: 661-664.
- Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I $\kappa$ B- $\alpha$ . *Diabetes* **2002**; 51: 2005-2011.
- Itoh T, Tamura T, Matsumoto T. Methylsterol composition of 19 vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc* **1973**; 50: 300–3.

## **J**

---

- Jackson MB, Osei SY, Ahima RS. The endocrine role of adipose tissue: focus on adiponectin and resistin. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes* **2005**; 12: 163–170.
- Jacobs MD, Harrison SC. Structure of an I  $\kappa$  B  $\alpha$ /NF- $\kappa$  B complex. *Cell.* **1998**; 95(6): 749-58.
- Jacquemard JC. Le palmier à huile. Coll. le Technicien d'agriculture tropicale. Ed Maisonneuve et Larose **1995**; 207p.
- Jakobs S. High resolution imaging of live mitochondria. *Biochim Biophys Acta* **2006**; 1763(5-6): 561-575.
- James AM, Wei YH, Pang CY, Murphy MP. Altered mitochondrial function in fibroblasts containing MELAS or MERRF mitochondrial DNA mutations. *Biochem. J.* **1996**; 318: 401–407.
- Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* **1990**; 9(6): 515-540.
- Janesick A, Blumberg B. Endocrine disrupting chemicals and the developmental programming of adipogenesis and obesity. *Birth Defects*

*Res Part C Embryo Today Rev*, **2011**; 93(1): 34–50

- Janovská A, Hatzinikolas G, Mano M, Wittert GA. The effect of dietary fat content on phospholipid fatty acid profile is muscle fiber type dependent. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. **2010**; 298(4): E779-86.
- Janssen AJ, Trijbels FJ, Sengers RC, Smeitink JA, van den Heuvel LP, Wintjes LT, Stoltenberg-Hogenkamp BJ, Rodenburg RJ. Spectrophotometric assay for complex I of the respiratory chain in tissue samples and cultured fibroblasts. *Clin Chem*. **2007**; 53(4):729-34.
- Janssens S, Heemskerk MM, van den Berg SA, van Riel NA, Nicolay K, Willems van Dijk K, Prompers JJ. Effects of low-stearate palm oil and high-stearate lard high-fat diets on rat liver lipid metabolism and glucose tolerance. *Nutr Metab (Lond)*. **2015**; 12: 57
- Jess T. Microbiota, antibiotics, and obesity. *N Engl J Med*. **2014**; 371(26): 2526-8.
- Ji X, Usman A, Razalli NH, Sambanthamurthi R, Gupta SV. Oil palm phenolics (OPP) inhibit pancreatic cancer cell proliferation via suppression of NF- $\kappa$ B pathway. *Anticancer Res*. **2015**; 35(1): 97-106.
- Jia G, Aroor AR, DeMarco VG, Martinez-Lemus L, Meininger GA, Sowers JR. Vascular stiffness in insulin resistance and obesity. *Front Physiol* **2015**; 6: 231.
- Jiao P, Ma J, Feng B, Zhang H, Diehl JA, Chin YE, Yan W, Xu H. FFA-induced adipocyte inflammation and insulin resistance: Involvement of ER stress and IKK $\beta$  pathways. *Obesity* **2011**; 19: 483–491.
- Jocelyn PC. Spectrophotometric assay of thiols. *Methods Enzymol*. **1987**; 143: 44-67.
- Jolivald C, Leininger-Muller B, Drozd R, Naskalski JW, Siest G. Apolipoprotein E is highly susceptible to oxidation by myeloperoxidase, an enzyme present in the brain. *Neurosci Lett*. **1996**; 210(1): 61-4.
- Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* **2011**; 283(2-3): 65-87.

## **K**

---

Kagan A, Harris BR, Winkelstein WJ. Epidemiologic studies of coronary heart

- disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: demographic, physical, dietary and biochemical characteristics. *J Chronic Dis.* **1974**; 27:345-364.
- Kahle M, Horsch M, Fridrich B, Seelig A, Schultheiss J. Phenotypic comparison of common mouse strains developing high-fat diet-induced hepatosteatosis. *Mol Metab* **2013**; 2: 435–446.
- Kahle M, Schafer A, Seelig A, Schultheiss J, Wu M. High fat diet-induced modifications in membrane lipid and mitochondrial-membrane protein signatures precede the development of hepatic insulin resistance in mice. *Mol Metab* **2014**; 4: 39–50.
- Kamei Y, Ohizumi H, Fujitani Y, Nemoto T, Tanaka T, Takahashi N, Kawada T, Miyoshi M, Ezaki O, Kakizuka A. PPARgamma coactivator 1beta/ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* **2003**; 100(21): 12378-12383.
- Kang MJ, Shin MS, Park JN, Lee SS. The effects of polyunsaturated: saturated fatty acids ratios and peroxidisability index values of dietary fats on serum lipid profiles and hepatic enzyme activities in rats. *Br. J. Nutr.* **2005**; 94 : 526–532.
- Kapseu C. Production, analyse et applications des huiles végétales en Afrique. *OCL* **2009**; 16 (4): 215-229.
- Karupaiah T, Sundram K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: A review of their nutritional implications. *Nutr. Metab.***2007**; 4: 16–32.
- Keay RW. Derived savanna-derived from what? *Bull Inst Fr Afr N.* **1959**; 21: 427-438.
- Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR, Simoneau JA. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am J Physiol.* **1999**; 277: E1130-41.
- Kelly DP, Scarpulla RC. Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* **2004**; 18(4): 357-368.
- Kelly JL, Greenleaf AL, Lehman IR. Isolation of the nuclear gene encoding a

- subunit of the yeast mitochondrial RNA polymerase. *J Biol Chem* **1986**; 261(22): 10348-10351.
- Kelly JL, Lehman IR. Yeast mitochondrial RNA polymerase. Purification and properties of the catalytic subunit. *J Biol Chem* **1986**; 261(22): 10340-10347.
- Keys A, Menotti A, Aravanis C, Blackburn H, Djordjevic BS, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N. The seven countries study: 2289 deaths in 15 years. *Prev. Med.* **1984**; 13: 141-154.
- Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, Fidanza F, Keys MH. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am. J. Epidemiol.* **1986**; 124: 903-915.
- Khanna S, Roy S, Slivka A, Craft TK. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alphanatocotrienol. *Stroke* **2005**; 36: 2258-2264.
- Kim JB, Wright HM, Wright M, Spiegelman BM. ADD1/SREBP1 activates PPARgamma through the production of endogenous ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* **1998**; 95(8): 4333-4337.
- Kim SH, Plutzky J. Brown Fat and Browning for the Treatment of Obesity and Related Metabolic Disorders. *Diabetes & Metabolism Journal.* **2016**; 40(1): 12-21.
- Kochikuzhyil BM, Devi K, Fattepur SR. Effect of saturated fatty acid-rich dietary vegetable oils on lipid profile, antioxidant enzymes and glucose tolerance in diabetic rats. *Indian J. Pharmacol.* **2010**; 42: 142-145.
- Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology* **2002**; 30(6): 620-650.
- Kolonel LN, Nomura AM, Cooney RV. Dietary fat and prostate cancer: Current status. *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**; 91: 414-428.
- Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL-guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* **2006**; 3(3): 144-53
- Krauss RM, Blanche PJ, Rawlings RS, Fernstrom HS, Williams PT. Separate

- effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. *Am J Clin Nutr* **2006**; 83: 1025-31.
- Krauss RM, Siri PW. Metabolic abnormalities: triglyceride and low-density lipoprotein. *Endocrinol Metab Clin North Am.* **2004**; 33: 405-15.
- Kressler D, Schreiber SN, Knutti D, Kralli A. The PGC-1-related protein PERC is a selective coactivator of estrogen receptor alpha. *J Biol Chem* **2002**; 277(16): 13918-13925.
- Krippeit-Drews P, Lang F, Haussinger D, Drews G. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B cells. *Pflugers Arch*, **1994**; 426: 552-554.
- Kritchevsky D, Sundram K. Palm oil in human nutrition: Recent advances. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2002**; 11: S393
- Kritchevsky D, Tepper SA, Chen SC, Meijer GW, Krauss RM. Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. 23. Effects of specific synthetic triglycerides. *Lipids* **2000**; 35: 621-625.
- Kritchevsky D, Tepper SA, Czarnecki SK, Sundram K. Red palm oil in experimental atherosclerosis. *Asia Pac J Clin Nutr* **2002**; 11: S433-7.
- Kroder G, Bossenmaier B, Kellerer M, Capp E, Stoyanov B, Mühlhöfer A, Berti L, Horikoshi H, Ullrich A, Häring H. Tumor necrosis factor-alpha- and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. *J. Clin. Invest.* **1996**; 97: 1471-1477.
- Kromhout D, Keys A, Aravanis C, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M. Food consumption patterns in the 1960s in seven countries. *Am. J. Clin. Nutr.* **1989**; 49: 889-894.
- Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, Aravanis A, Blackburn H, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: The Seven Countries Study. *Prev. Med.* **1995**; 24: 308-315.
- Krook A, Bjornholm M, Galuska D, Jiang XJ, Fahlman R, Myers MG, Wallberg-

- Henriksson HJr, Zierath JR. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes*. **2000**; 49: 284-92.
- Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. In: Bergmeyer. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Volume VI, Metabolites 1: Carbohydrates **1984**; 163-172.
- Kushi L, Giovannucci E. Dietary fat and cancer. *Am J Med* **2002**; 113: 63S-70S.
- Kwak MK, Wakabayashi N, Greenlaw JL, Yamamoto M, Kensler TW. Antioxidants enhance mammalian proteasome expression through the Keap1-Nrf2 signaling pathway. *Mol Cell Biol* **2003**; 23(23): 8786-8794.
- Kwon MJ, Kim B, Lee YS, Kim TY. Role of superoxide dismutase 3 in skin inflammation. *J Dermatol Sci* **2012**; 67(2): 81-87.

## **L**

---

- La Vecchia C. Mediterranean Diet and cancer. *Public Health Nutr* **2004**; 7: 965e8.
- Lafontan M, Girard J. Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism. Part I: heterogeneity of adipose tissue and functional properties of visceral adipose tissue. *Diabetes Metab* **2008**; 34(4 Pt 1): 317-327.
- Lagathu C, Bastard JP, Auclair M, Maachi M, Capeau J, Caron M. Chronic Interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: Prevention by Rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun*. **2003**; 311: 372-379.
- Laine PS, Schwartz EA, Wang Y, Zhang WY, Karnik SK, Musi N, Reaven PD. Palmitic acid induces IP-10 expression in human macrophages via NF-kappaB activation. *Biochem Biophys Res Commun*. **2007**; 358: 150-155.
- Laliberte J, Labbe S. Les bases moléculaires de l'approvisionnement en cuivre. *Med Sci (Paris)* **2008**; 24(3): 277-283.
- Lamarche B, Lemieux I, Després JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab*. **1999**; 25(3): 199-211.
- Lange C, Nett JH, Trumpower BL, Hunte C. Specific roles of protein-

- phospholipid interactions in the yeast cytochrome bc1 complex structure. *EMBO J.* **2001**; 20: 6591–6600.
- Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H, Oldfors A, Rustin P, Lewandoski M, Barsh GS, Clayton DA. Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* **1998**; 18(3): 231-236.
- Laurent D, Yerby B, Deacon R, Gao J. Diet-induced modulation of mitochondrial activity in rat muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **2007**; 293(5): E1169-77.
- LE Testu G. Note sur la végétation dans le bassin de la Nyanga et de la Ngounyé au Gabon. *Mém. Soc. Linnéenne de Normandie, Botanique.* **1938**; 4 83-108.
- Lecerf JM. L'huile de palme, aspects nutritionnels. Journées palmier, 34p, 2012. Récupéré sur <http://www.cirad.fr/MM/pdf-journee-palmier-2012-07/JF%20Palmier%202012%20-%20JM%20Lecerf.pdf>.
- Lecerf JM. L'huile de palme : aspects nutritionnels et métaboliques. Rôle sur le risque cardiovasculaire. *OCL* **2013**; 20(3): 147-159.
- Lee JM, Li J, Johnson DA, Stein TD, Kraft AD, Calkins MJ, Jakel RJ, Johnson JA. Nrf2, a multi-organ protector? *FASEB J* **2005**; 19(9): 1061-1066.
- Lee WT, Wang PJ, Young C, Wang TR, Shen YZ. Cytochrome c oxidase deficiency in fibroblasts of a patient with mitochondrial encephalomyopathy. *J Formos Med Assoc* **1996**; 95(9): 709-711
- Lee Y, Wang MY, Kakuma T, Wang ZW, Babcock E, McCorkle K, Higa M, Zhou YT, Unger RH. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J Biol Chem* **2001**; 276(8): 5629-5635.
- Lefevre G, Beljean-Leymarie M, Beyerle F, Bonnefont-Rousselot D, Cristol JP, Therond P, Torreilles J. Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Ann Biol Clin* **1998**; 56(3): 305-319.
- Lefevre M, Champagne CM, Tulley RT, Rood JC, Most MM. Individual variability in cardiovascular disease risk factor responses to lowfat and low-saturated-fat diets in men: body mass index, adiposity, and insulin

- resistance predict changes in ldl cholesterol. *Am J Clin Nutr* **2005**; 82: 957-63.
- Lehtimäki T, Lehtinen S, Solakivi T, Nikkilä M, Jaakkola O, Jokela H, Ylä-Herttuala S, Luoma JS, Koivula T, Nikkari T. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein in patients with angiographically verified coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **1999**;19: 23-27.
- Lenaz G. A critical appraisal of the mitochondrial coenzyme Q pool. *FEBS Lett.* **2001**; 509(2): 151-5.
- Lenaz G, Fato R, Genova ML, Bergamini C, Bianchi C, Biondi A. Mitochondrial Complex I: structural and functional aspects. *Biochim Biophys Acta.* **2006**; 1757(9-10): 1406-20.
- Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res.* **1986**; 27 (1): 114-120.
- Leshinsky-Silver E, Levine A, Nissenkorn A, Barash V, Perach M, Buzhaker E, Shahmurov M, Polak-Charcon S, Lev D, Lerman-Sagie T. Neonatal liver failure and Leigh syndrome possibly due to CoQ-responsive OXPHOS deficiency. *Mol Genet Metab* **2003**; 79(4): 288-293
- Letonturier P. Pour un vieillissement réussi. *La Presse Médicale.* **2002**; 31(25): 1173.
- Letouzey R. Notes phytogéographiques sur les Palmiers du Cameroun. *Adansonia*, **1978**; 18: 293-325.
- Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* **2002**; 23(2): 201-229.
- Lewis RE, Cao L, Perregaux D, Czech MP. Threonine 1336 of the human insulin receptor is a major target for phosphorylation by protein kinase C. *Biochemistry* **1990**; 29: 1807-13.
- Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2003**; 37(2): 343-350.
- Liang H, Ward WF. PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Adv*

- Physiol Educ.* **2006**; 30 (4): 145–51.
- Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature.* **2011**; 473(7347): 317-25
- Lietz G, Henry CJK, Mulokozi G, Mugyabuso J. Use of red palm oil for the promotion of maternal vitamin A status. *Food Nutr. Bull.* **2000**; 21: 215–218.
- Lin SJ, Kaeberlein M, Andalis AA, Sturtz LA, Defossez PA, Culotta VC, Fink GR, Guarente L. Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature* **2002**; 418(6895): 344-348.
- Lind C, Hochstein P, Ernster L. DT-diaphorase as a quinone reductase: a cellular control device against semiquinone and superoxide radical formation. *Arch Biochem Biophys* **1982**; 216(1): 178-185.
- Lionetti L, Mollica MP, Donizzetti I, Gifuni G, Sica R. High-lard and high-fish-oil diets differ in their effects on function and dynamic behavior of rat hepatic mitochondria. *PLoSOne* **2014**; 9: e92753.
- Liu L, Yu S, Khan RS, Ables GP, Bharadwaj KG, Hu Y, Huggins LA, Eriksson JW, Buckett LK, Turnbull AV, Ginsberg HN, Blaner WS, Huang LS, Goldberg IJ. DGAT1 deficiency decreases PPAR expression and does not lead to lipotoxicity in cardiac and skeletal muscle. *J Lipid Res* **2011**; 52: 732-744.
- Liu L, Zhuang W, Wang RQ, Mukherjee R, Xiao SM, Chen Z. Is dietary fat associated with the risk of colorectal cancer? A meta-analysis of 13 prospective cohort studies. *Eur J Nutr.* **2011**; 50: 173–184.
- Loschen G, Flohé L, Chance B. Respiratory chain linked H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in pigeon heart mitochondria. *FEBS Lett.* **1971**; 18(2): 261-264.
- Lyoumi S, Tamion F, Leplingard A, Beaumont C, Puy H, Lebreton JP. Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème. *Hématologie* **2007**; 13(4): 251-265.

## **M**

---

Ma L, Robinson LN, Towle HC. ChREBP/Mlx is the principal mediator of

- glucose-induced gene expression in the liver. *J Biol Chem* **2006**; 281(39): 28721-28730.
- Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **2013**; 53: 401-426.
- Malhotra D, Portales-Casamar E, Singh A, Srivastava S, Arenillas D, Happel C, Shyr C, Wakabayashi N, Kensler TW, Wasserman WW, Biswal S. Global mapping of binding sites for Nrf2 identifies novel targets in cell survival response through ChIP-Seq profiling and network analysis. *Nucleic Acids Res* **2010**; 38(17): 5718-5734.
- Mancini A, Imperlini E, Nigro E, Montagnese C, Daniele A, Orrù S, Buono P. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules*. **2015**; 20(9):17339-61.
- Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* **2008**; 93: S74–80.
- Marklund S. Spectrophotometric study of spontaneous disproportionation of superoxide anion radical and sensitive direct assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. **1976**; 251 (23): 7504-7507.
- Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*. **1999**; 424(1-2): 83-95.
- Marzuki A, Arshad F, Razak TA, Jaarin K. Influence of dietary fat on plasma lipid profiles of Malaysian adolescents. *Am J Clin Nutr*. **1991**; 53: 1010S–1014S.
- Masters BS, Stohl LL, Clayton DA. Yeast mitochondrial RNA polymerase is homologous to those encoded by bacteriophages T3 and T7. *Cell* **1987**; 51(1): 89-99.
- Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* **1999**; 32(8): 595-603.
- Matsusue K, Haluzik M, Lambert G, Yim SH, Gavrilova O, Ward JM, Brewer B Jr, Reitman ML, Gonzalez FJ. Liver-specific disruption of PPARgamma in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest* **2003**; 111(5): 737-747.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC.

- Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. **1985**; 28(7):412-9.
- Mba OI, Dumont MJ, Ngadi M. Palm Oil: Processing, characterization and utilization in the food industry. *A review. Food Biosci*. **2015**; 10: 26–41.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. **1969**; 244(22): 6049-55.
- McCulloch V, Seidel-Rogol BL, Shadel GS. A human mitochondrial transcription factor is related to RNA adenine methyltransferases and binds S-adenosylmethionine. *Mol Cell Biol*. **2002**; 22 (4): 1116–25.
- McCulloch V, Shadel GS. Human mitochondrial transcription factor B1 interacts with the C-terminal activation region of h-mtTFA and stimulates transcription independently of its RNA methyltransferase activity. *Mol. Cell. Biol*. **2003**; 23 (16): 5816–24
- Meirhaeghe A, Crowley V, Lenaghan C, Lelliott C, Green K, Stewart A, Hart K, Schinner S, Sethi JK, Yeo G, Brand MD, Cortright RN, O'Rahilly S, Montague C, Vidal-Puig AJ. Characterization of the human, mouse and rat PGC1 beta (peroxisomeproliferator-activated receptor-gamma co-activator 1 beta) gene in vitro and in vivo. *Biochem J* **2003**; 373(Pt 1): 155-165.
- Memon RA, Tecott LH, Nonogaki K, Beigneux A, Moser AH, Grunfeld C, Feingold KR. Up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR-alpha) and PPAR-gamma messenger ribonucleic acid expression in the liver in murine obesity: troglitazone induces expression of PPAR-gamma-responsive adipose tissue-specific genes in the liver of obese diabetic mice. *Endocrinology* **2000**; 141(11): 4021-4031.
- Menendez JA, Lupu R. Mediterranean Dietary traditions for the molecular treatment of human cancer: anti-oncogenic actions of the main olive oil's monounsaturated fatty acid oleic acid (18:1 n-9). *Curr Pharm Biotechnol* **2006**; 7: 495e502.
- Menotti A, Keys A, Aravanis C, Blackburn H, Dontas A, Fidanza F, Karvonen

- MJ, Kromhout D, Nedeljkovic S, Nissinen A, Toshima H. Seven countries study. First 20-year mortality data in 12 cohorts of six countries. *Ann. Med.* **1989**; 21: 175–179.
- Metodiev MD, Lesko N, Park CB, Camara Y, Shi Y, Wibom R, Hulthenby K, Gustafsson CM, Larsson NG. Methylation of 12S rRNA is necessary for in vivo stability of the small subunit of the mammalian mitochondrial ribosome. *Cell Metab.* **2009**; 9 (4): 386–9
- Miele L, Grieco A, Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Forgione A, Alfei B, Rapaccini GL, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Nonalcoholic-steatohepatitis (NASH) and hepatic mitochondrial beta-oxidation. *J Hepatol* **2003**; 38(suppl 2): 197.
- Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)* **2011**;27 : 405–412.
- Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaconelli A, Leccesi L, Nanni G, Pomp A, Castagneto M, Ghirlanda G, Rubino F. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med.* **2012**; 366(17): 1577-85.
- Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* **1961**; 191: 144-148.
- Mitchell, P. Protonmotive redox mechanism of the cytochrome b-c1 complex in the respiratory chain: protonmotive ubiquinone cycle. *FEBS Lett* **1975**; 56(1): 1-6.
- Miyazawa T, Shibata A, Nakagawa K, Tsuzuki T. Anti-angiogenic function of tocotrienol. *Asia Pac J Clin Nutr.* **2008**; 7: 253–256.
- Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, Mauri C, Bicknell C, Foxwell B, Cheshire N, Paleolog E, Feldmann M. Canonical pathway of nuclear factor kappa B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* **2004**; 101(15): 5634-9.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* **1991**; 43(2): 109-42.
- Mondé AA, Michel F, Carbonneau MA, Tiahou G, Vernet MH, Eymard-

- Duvernay S, Badiou S, Adon B, Konan E, Sess D, Cristol JP. Comparative study of fatty acid composition, vitamin E and carotenoid contents of palm oils from four varieties of oil palm from Côte d'Ivoire. *J Sci Food Agric.* **2009**; 89: 2535 – 2540.
- Mondé AA, Carbonneau MA, Michel F, Laure C, Diabate S, Konan E, Sess D, Cristol JP. Potential Health Implication of in Vitro Human Low-Density Lipoprotein–Vitamin E Oxidation Modulation by Polyphenols Derived from Côte d'Ivoire's Oil Palm Species. *J. Agric. Food Chem.* **2011**; 59 (17): 9166–9171.
- Montaño A, Hernández M, Garrido I, Llerena JL, Espinosa F. Fatty Acid and Phenolic Compound Concentrations in Eight Different Monovarietal Virgin Olive Oils from Extremadura and the Relationship with Oxidative Stability. *Int J Mol Sci.* **2016**; 17(11): E1960.
- Mooney RA, Senn J, Cameron S, Inamdar N, Boivin LM, Shang Y, Furlanetto R.W. Suppressors of cytokine signaling-1 and -6 associate with and inhibit the insulin receptor. A potential mechanism for cytokine-mediated insulin resistance. *J. Biol. Chem.* **2001**; 276: 25889–25893.
- Mootha VK, Handschin C, Arlow D, Xie X, St Pierre J, Sihag S, Yang W, Altshuler D, Puigserver P, Patterson N, Willy PJ, Schulman IG, Heyman RA, Lander ES, Spiegelman BM. Erralpha and Gabpa/b specify PGC-1alpha-dependent oxidative phosphorylation gene expression that is altered in diabetic muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**; 101(17): 6570-6575.
- Mordier S, Iynedjian PB. Activation of mammalian target of rapamycin complex 1 and insulin resistance induced by palmitate in hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**; 362: 206–211.
- Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Res.* **2011**; 21(1):103-15.
- Morin O, Pages-Xatart-Pares X. Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *OCL* **2012**; 19(2): 63-75.
- Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzkes N, Neschen S, White MF, Bilz S, Sono S, Pypaert M, Shulman GI. Reduced

- mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *J Clin Invest* **2005**; 115: 3587–93.
- Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ. A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* **1990**; 87: 9383-7.
- Morrow JD, Roberts LJ. Mass spectrometric quantification of F<sub>2</sub>-isoprostanes in biological fluids and tissues as measure of oxidant stress. *Methods Enzymol.* **1999**; 300: 3-12.
- Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol Med* **2004**; 10(11): 549-557.
- Mozaffarian D, Rimm EB, Herrington DM. Dietary fats, carbohydrate, and progression of coronary atherosclerosis in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **2004**; 80: 1175-84.
- Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Walter C, Willett WC. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* **2006**; 354:1601-1613.
- Muharis SP, Md Top AG, Murugan D, Mustafa MR. Palm oil tocotrienol fractions restore endothelium dependent relaxation in aortic rings of streptozotocin-induced diabetic and spontaneously hypertensive rats. *Nutr. Res.* **2010**; 30: 209–216.
- Muoio DM, Newgard CB. Metabolism: A is for adipokine. *Nature.* **2005**; 436(7049): 337-8.
- Murphy EF, Cotter PD, Hogan A, O'Sullivan O, Joyce A, Fouhy F, Clarke SF, Marques TM, O'Toole PW, Stanton C. Divergent metabolic outcomes arising from targeted manipulation of the gut microbiota in diet-induced obesity. *Gut.* **2013**; 62(2): 220-6.
- Murphy MP. Slip and leak in mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* **1989**; 97: 123-141.
- Murugesapillai D, McCauley MJ, Maher LJ, Williams MC. Single-molecule studies of high-mobility group B architectural DNA bending proteins. *Biophys Rev* **2017**; 9:17-40

- Musunuru K. Atherogenic dyslipidemia: cardiovascular risk and dietary intervention. *Lipids*. **2010**; 45 (10) : 907-14
- Myung SK, Ju W, Kim SC, Kim H. Vitamin or antioxidant intake (or serum level) and risk of cervical neoplasm: a metaanalysis. *BJOG* **2011**; 118: 1285–1291.

## **N**

---

- Nadal-Casellas A, Amengual-Cladera E, Proenza AM, Llado I, Gianotti M. Long-term high-fat-diet feeding impairs mitochondrial biogenesis in liver of male and female rats. *Cell Physiol Biochem*. **2010**; 26: 291–302.
- Nagle CA, Klett EL, Coleman RA. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *J Lipid Res* **2009**; 50: S74-S79.
- Nair J, Barbin A, Velic I, Bartsch H. Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat Res*. **1999**; 424(1-2): 59-69
- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, **2006**; 367: 36-47.
- Nakamuta M, Kohjima M, Morizono S, Kotoh K, Yoshimoto T, Miyagi I, Enjoji M. Evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* **2005**; 16(4): 631-635.
- Navarro-Alarcon M, Lopez-Martinez MC. Essentiality of selenium in human body: relationship with different diseases. *Sc Total Envir*. **2000**; 249: 347–371.
- Nedeltcheva V, Kilkus JM, Imperial J, Schoeller DA, Penev PD. Insufficient sleep undermines dietary efforts to reduce adiposity. *Ann Intern Med*, **2010**; 153: 435–441
- Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, La Vecchia C. Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer* **2000**; 86: 122–127.
- Negri E, La Vecchia C, Franceschi S, D'Avanzo B, Talamini R, Parpinel M. Intake of selected micronutrients and the risk of breast cancer. *Int J Cancer* **1996**; 65: 140–144.

- Németh K, Plumb GW, Berrin JG, Juge N, Jacob R, Naim HY, Williamson G, Swallow DM, Kroon PA. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr.* **2003**; 42(1): 29-42.
- Neo Y, Ariffin A, Tan C, Tan Y. Phenolic acid analysis and antioxidant activity assessment of oil palm (*e. guineensis*) fruits extracts. *Food Chemistry.* **2010**; 122: 353-9.
- Nesaretnam K, Meganathan P, Veerasenan SD, Selvaduray KR. Tocotrienols and breast cancer: the evidence to date. *Genes Nutr* **2012**; 7: 3–9.
- Nesaretnam K, Radhakrishnan A, Selvaduray KR, Reimann K. Effect of palm oil carotene on breast cancer tumorigenicity in nude mice. *Lipids* **2002**; 37: 557–560.
- Nesteruk M, Hennig EE, Mikula M, Karczmarski J, Dzwonek A. Mitochondrial-related proteomic changes during obesity and fasting in mice are greater in the liver than skeletal muscles. *Funct Integr Genom.* **2014**; 14: 245–259.
- Neumann CA, Cao J, Manevich Y. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle.* **2009**; 8(24): 4072-8.
- Newberry EP, Xie Y, Kennedy S, Han X, Buhman KK, Luo J, Gross RW, Davidson NO. Decreased hepatic triglyceride accumulation and altered fatty acid uptake in mice with deletion of the liver fatty acid-binding protein gene. *J. Biol. Chem.* **2003**; 278: 51664–51672.
- Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Environmental Estrogens and Obesity. *Mol cell endocrinol.* **2009**; 304(1-2): 84-89.
- Newman HA, Gordeky SE, Hoppel C, Cooper C. The action of digitonin on rat liver mitochondria. Phospholipid content. *The Biochemical Journal* **1968**; 107 (3): 381-385.
- Newton AC. Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: protein kinase C as a paradigm. *Biochem J* **2003**; 370 (part 2): 361–71.
- Ng MH, Choo YM, Ma AN, Chuah CH, Hashim MA. Separation of coenzyme Q10 in palm oil by supercritical fluid chromatography. *Am. J. Appl. Sci.* **2006**; 3: 1929-1932.

- Ng LT, Ko HJ. Comparative effects of tocotrienol-rich fraction,  $\alpha$ -tocopherol and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on inflammatory mediators and nuclear factor kappa B expression in mouse peritoneal macrophages. *Food Chem.* **2012**; 134(2): 920-5.
- Nicklas BJ, Penninx BW, Cesari M, Kritchevsky SB, Newman AB, Kanaya AM, Pahor M, Jingzhong D, Harris TB. Health, Aging and Body Composition Study. Association of visceral adipose tissue with incident myocardial infarction in older men and women: the Health, Aging and Body Composition Study. *Am J Epidemiol.* **2004**; 160(8): 741-9.
- Nicklas BJ, Cesari M, Penninx BW, Kritchevsky SB, Ding J, Newman A, Kitzman DW, Kanaya AM, Pahor M, Harris TB. Abdominal obesity is an independent risk factor for chronic heart failure in older people. *J Am Geriatr Soc.* **2006**; 54(3): 413-20
- Niklowitz P, Sonnenschein A, Janetzky B, Andler W, Menke T. Enrichment of coenzyme Q10 in plasma and blood cells: Defense against oxidative damage. *Int J Biol Sci.* **2007**; 3: 257-262.
- Noda N, Wakasugi H. Cancer and Oxidative Stress. *JMAJ* **2001**; 44(12): 535-539.
- Ntambi JM, Miyazaki M. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.* **2004**; 43: 91-104.

## **O**

---

- Obibuzor JU, Okogbenin EA, Abigor RD. Oil recovery from palm fruits and palm kernel. In *Palm Oil: Production, Processing, Characterization and Uses*; Lai OM, Tan CP, Akoh CC. Eds.; AOCS Press: Urbana, IL, USA, **2012**; pp. 299-328.
- Odia OJ, Ofori S, Maduka O. Palm Oil and the heart: A review. *World J. Cardiol.* **2015**; 26: 144-149.
- Ohno M, Kobayashi T, Tanaka K, Goto I, Nonaka I. Mitochondrial encephalomyopathy (focal cytochrome c oxidase deficiency) with transient episodes of muscle weakness and elevation of serum creatine kinase activity. *Rinsho Shinkeigaku* **1990**; 30(3): 317-319.

- Ohtsuka T, Nishijima M, Suzuki K, Akamatsu Y. Mitochondrial dysfunction of a cultured chinese-hamster ovary cell mutant deficient in cardiolipin. *J Biol Chem* **1993**; 268: 22914-22919.
- Oltra AM, Carbonell F, Tormos C, Iradi A, Sáez GT. Antioxidant enzyme activities and the production of MDA and 8-oxo-dG in chronic lymphocytic leukemia. *Free Radic Biol Med.* **2001**; 30(11): 1286-92.
- OMS. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *Technical Report Series 916 Geneva: WHO* **2003**; p 1-104.
- OMS. Obésité: prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale. *Rapport d'une Consultation de l'OMS* **2003**; 300 pages
- OMS. Obésité et surpoids. Juin **2016**. (consulté le 26 mars 2017)  
<http://www.who.int>.
- Ong AS, Goh SH. Palm Oil: A healthful and cost-effective dietary component. *Food Nutr. Bull.* **2002**; 23: 11-22.
- Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P, Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med.* **2002**; 346(8): 570-8.
- Osakabe N, Baba S, Yasuda A, Iwamoto T, Kamiyama M, Takizawa T, Itakura H, Kondo K. Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radic Res* **2001**; 34(1): 93-99.
- Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalter B, Bartsch H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol* **2000**; 38: 647e59.

## **P**

---

- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* **1967**; 70(1): 158-69.
- Pagliassotti MJ, Pan D, Prach P, Koppenhafer T, Storlien L, Hill JO. Tissue

- oxidative capacity, fuel stores and skeletal muscle fatty acid composition in obesity-prone and obesity-resistant rats. *Obes Res.* **1995**; 3: 459-64.
- Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappa B transcription factors. *Oncogene* **1999**; 18(49): 6853-6866.
- Papa S, Lorusso M, Di Paola M. Cooperativity and flexibility of the protonmotive activity of mitochondrial respiratory chain. *Biochim Biophys Acta*, **2006**; 1757: 428-436.
- Papaioannou D, Cooper KL, Carroll C, Hind D, Squires H, Tappenden P, Logan RF. Antioxidants in the chemoprevention of colorectal cancer and colorectal adenomas in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis* **2011**; 13: 1085–1099.
- Park SY, Kim HJ, Wang S, Higashimori T, Dong J, Kim YJ, Cline G, Li H, Prentki M, Shulman GI, Mitchell GA, Kim JK. Hormone-sensitive lipase knockout mice have increased hepatic insulin sensitivity and are protected from short-term diet-induced insulin resistance in skeletal muscle and heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2005**; 289(1): E30-39.
- Park SY, HJCho YR, Kim, Higashimori T, Danton C, Lee MK, Dey A, Rothermel B, Kim YB, Kalinowski A, Russell KS, Kim JK. Unraveling the temporal pattern of diet-induced insulin resistance in individual organs and cardiac dysfunction in C57BL/6 mice. *Diabetes*. **2005**; 54: 3530-40.
- Parker RA, Pearce BC, Clark RW, Gordon DA. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J. Biol. Chem.* **1993**; 268: 11230–11238.
- Parma NS, Kumar P, Rajesh KT. Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency. *Journal of plant nutrition*, **2004**; 27(3): 451-463.
- Pascot A, Lemieux I, Prud'homme D, Tremblay A, Nadeau A, Couillard C, Bergeron J, Lamarche B, Després JP. Reduced HDL particle size as an additional feature of the atherogenic dyslipidemia of abdominal obesity. *J Lipid Res.* **2001**; 42(12): 2007-14.
- Paterson JM, Morton NM, Fievet C, Kenyon CJ, Holmes MC, Staels B, Seckl

- JR, Mullins JJ. Metabolic syndrome without obesity: Hepatic overexpression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**; 101(18): 7088-7093.
- Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, Miyazaki Y, Kohane I, Costello M, Saccone R, Landaker EJ, Goldfine AB, Mun E, DeFronzo R, Finlayson J, Kahn CR, Mandarino LJ. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2003**; 100: 8466-71.
- Paumard P, Vaillier J, Couлары B, Schaeffer J, Soubannier V, Mueller DM, Brethes D, di Rago JP, Velours J. The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. *Embo J* **2002**; 21: 221-230.
- Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, Sokohl A. The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol* **2007**; 22(5): 606-616.
- Pelucchi C, Tramacere I, Bertuccio P, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Dietary intake of selected micronutrients and gastric cancer risk: an Italian case-control study. *Ann Oncol* **2009**; 20: 160-165.
- Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja G, Battino M, Blanco A. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* **2005**; 35: 421e4
- Perona JS, Ruiz-Gutiérrez V. Effect of two high-oleic oils on the liver lipid composition of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. **2000**; 66(6): 521-31.
- Pfeiffer S, Leopold E, Schmidt K, Brunner F, Mayer B. Inhibition of nitric oxide synthesis by NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME): requirement for bioactivation to the free acid, NG-nitro-L-arginine. *Br J Pharmacol*. **1996**; 118(6): 1433-1440.
- Pignatelli B, Bancel B, Estève J, Malaveille C, Calmels S, Correa P, Patricot LM, Laval M, Lyandrat N, Ohshima H. Inducible nitric oxide synthase, anti-oxidant enzymes and Helicobacter pylori infection in gastritis and gastric precancerous lesions in humans. *Eur J Cancer Prev* **1998**; 7: 439-447.

- Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 $\alpha$  gene in human skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)*. **2003**; 546 (Pt 3): 851–8
- Pinkus R, Weiner LM, Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-kappaB, and glutathione S-transferase gene expression. *J Biol Chem* **1996**; 271(23): 13422-13429.
- Podda M, Weber C, Traber MG, Packer L. Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol, and ubiquinones. *J Lipid Res* **1996**; 37: 893-901.
- Poirier P, Lemieux I, Mauriège P, Dewailly E, Blanchet C, Bergeron J, Després JP. Impact of waist circumference on the relationship between blood pressure and insulin: the Quebec Health Survey. *Hypertension*. **2005**; 45(3): 363-7.
- Portakal O, Ozkaya O, Inai ME, Bozan B. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin. Biochem.* **2000**; 33: 279–284.
- Portillo MP, Chávarri M, Durán D, Rodríguez VM, Macarulla MT. Differential effects of diets that provide different lipid sources on hepatic lipogenic activities in rats under ad libitum or restricted feeding. *Nutrition*. **2001**; 17: 467-73.
- Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* **2008**; 118(3): 829-838.
- Poulsen HE. Oxidative DNA modifications. *Exp Toxicol Pathol* **2005**; 57:161-9.
- Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* **1999**; 31: 987-997.
- Previs SF, Withers DJ, Ren JM, White MF, Shulman GI. Contrasting effects of IRS-1 versus IRS-2 gene disruption on carbohydrate and lipid metabolism in vivo Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *J Biol Chem* **2000**; 275: 38990–94.
- Pritchard JB, Miller DS. Mechanisms mediating renal secretion of organic

anions and cations. *Physiol Rev* **1993**; 73(4): 765-796.

Puigserver P, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocr Rev* **2003**; 24: 78-90.

## Q

---

Qureshi AA, Peterson DM, Hasler-Rapacz JO, Rapacz J. Novel tocotrienols of rice bran suppress cholesterogenesis in hereditary hypercholesterolemic swine. *J Nutr* **2001**; 131: 223-30.

Qureshi AA, Qureshi N, Wright JJK, Shen Z. Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols (palmvitee). *Am. J. Clin. Nutr.* **1991**; 53: 1021S-1026S.

Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran and in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* **2002**; 161: 199-207.

## R

---

Rahman S, Taanman JW, Cooper JM, Nelson I, Hargreaves I, Meunier B, Hanna MG, Garcia JJ, Capaldi RA, Lake BD, Leonard JV, Schapira AH. A missense mutation of cytochrome oxidase subunit II causes defective assembly and myopathy. *Am J Hum Genet* **1999**; 65(4): 1030-1039.

Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* **1963**; 1: 785-789.

Rao CV, Zang E, Reddy BS. Effect of high fat corn oil, olive oil and fish oil on phospholipid fatty acid composition in male F344 rats. *Lipids*. **1993**; 28(5): 441-7.

Rao NBS. Potential use of red palm oil in combating vitamin deficiency in India. *Food Nutr. Bull.* **2000**; 21: 202-211.

Rasool AH, Rahman AR, Yuen KH, Wong AR. Arterial compliance and vitamin

- E blood levels with a selfemulsifying preparation of tocotrienol rich vitamin E. *Arch. Pharm. Res.* **2008**; 31: 1212–1217.
- Rattazzi M, Callegari E, Sponchiado A, Galliazzo S, Pagliara V, Villalta S, Pauletto P. Visceral obesity, but not metabolic syndrome, is associated with the presence of post-thrombotic syndrome. *Thromb Res.* **2015**; 136(2): 225-8.
- Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet.* **2000**; 356(9225): 233-41.
- Razali I. Palm oil and palm olein frying applications. *Asia Pac J Clin Nutr* **2005**; 14 :414-9.
- Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metab Clin North Am.* **2004**; 33: 283-303.
- Reaven GM. Banting lecture 1988: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* **1988**; 37(12): 1595-1607.
- Reaven GM. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* **2003**; 88: 2399-403.
- Rector RS, Thyfault JP, Uptergrove GM, Morris EM, Naples SP, Borengasser SJ, Mikus CR, Laye MJ, Laughlin MH, Booth FW. Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *J. Hepatol.* **2010**; 52: 727–736.
- Redler RL, Dokholyan NV. The complex molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Prog Mol Biol Transl Sci* **2012**; 107: 215-262.
- Rees AR. Evidence of the African origin of the oil palm. *Principles* **1965**; 9: 30-36
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN 76 A rodent diet. *J Nutr.* **1993**; 123:1939-51
- Reiter E, Jiang Q, Christen S. Anti-inflammatory properties of alpha-and gamma-tocopherol. *Mol Aspects Med.* **2007**; 28(5-6): 668-91.

- Renaud SC, Ruf JC, Petithory D. The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biologic effects in rats. *J Nutr.* **1995**; 125(2): 229-37.
- Rice AL, Burns JB. Moving from efficacy to effectiveness: red palm oil's role in preventing vitamin a deficiency. *J Am Coll Nutr* **2010**; 29: 302S-13S.
- Richardson DK, Kashyap S, Bajaj M, Cusi K, Mandarino SJ, Finlayson J, DeFronzo RA, Jenkinson CP, Mandarino LJ. Lipid infusion decreases the expression of nuclear encoded mitochondrial genes and increases the expression of extracellular matrix genes in human skeletal muscle. *J Biol Chem.* **2005**; 280(11): 10290-7.
- Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* **2013**; 341(6150): 1241214.
- Rival A, Levang P. La palme des controverses, Palmier à huile et enjeux de développement. Editions Quæ, **2013**. Collection Essais. 104 pages.
- Robak J, Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol.* **1988**; 37(5): 837-41.
- Robinson NC. Functional binding of cardiolipin to cytochrome c oxidase. *J Bioenerg. Biomembr.* **1993**; 25: 153-163.
- Rohman A, Triyana K, Sisindari, Erwanto Y. Differentiation of lard and other animal fats based on triacylglycerols composition and principal component analysis. *International Food Research Journal* **2012**; 19(2): 475-479
- Romero-Corral A, Sert-Kuniyoshi FH, Sierra-Johnson J, Orban M, Gami A, Davison D, Singh P, Pusalavidyasagar S, Huyber C, Votruba S, Lopez-Jimenez F, Jensen MD, Somers VK. Modest visceral fat gain causes endothelial dysfunction in healthy humans. *J Am Coll Cardiol.* **2010**; 56(8): 662-6.
- Romualdi E, Squizzato A, Ageno W. Abdominal obesity and the risk of recurrent deep vein thrombosis. *Thromb Res.* **2007**; 119(6): 687-90.
- Rooyen JV, Esterhuysen AJ, Engelbrecht AM, Toit EF. Health benefits of a

- natural carotenoid rich oil: A proposed mechanism of protection against ischemia/reperfusion injury. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2008**; 17: 316-319.
- Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* **1999**; 4(4): 611-617.
- Rossini A, Zanobbio L, Sfondrini L, Cavalleri A, Secreto G, Morelli D, Palazzo M, Sommariva M, Tagliabue E, Rumio C. Influence of fatty acid-free diet on mammary tumor development and growth rate in HER-2/Neu transgenic mice. *J. Cell. Physiol.* **2013**; 228: 242-249.
- Rotig A, de Lonlay P, Chretien D, Foury F, Koenig M, Sidi D, Munnich A, Rustin P. Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedreich ataxia. *Nat Genet* **1997**; 17(2): 215-217.
- Rouser G, Simon G, Kritchevsky G. Species variations in phospholipid class distribution of organs. I. Kidney, liver and spleen. *Lipids.* **1969**; 4(6): 599-606.
- Roy J. Situation du Palmier à huile en Guinée. *Bull. Agronomique.* **1957**; 14: 120-125.
- Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Perez-Martinez P. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* **2005**; 46: 1864e8.
- Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* **1986**; 250: H822-7.
- Rueckschloss U, Quinn MT, Holtz J, Morawietz H. Dose-dependent regulation of NAD(P)H oxidase expression by angiotensin II in human endothelial cells: protective effect of angiotensin II type 1 receptor blockade in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **2002**; 22(11): 1845-51.
- Ruiz-Gutiérrez V, Pérez-Espinosa A, Vázquez CM, Santa-María C. Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic-acid sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *Br J Nutr.* **1999**; 82(3): 233-41.

- Ruiz-Gutiérrez V, Vázquez CM, Santa-Maria C. Liver lipid composition and antioxidant enzyme activities of spontaneously hypertensive rats after ingestion of dietary fats (fish, olive and high-oleic sunflower oils). *Biosci Rep.* **2001**; 21(3): 271-85.
- Ruiz JI, Ochoa B. Quantification in the subnanomolar range of phospholipids and neutral lipids by monodimensional thin-layer chromatography and image analysis. *Ru J Lipid Res.* **1997**; 38(7): 1482-9.
- Rustin P, Lebidois J, Chretien D, Bourgeron T, Piechaud JF, Rötig A, Sidi D, Munnich A. The investigation of respiratory chain disorders in heart using endomyocardial biopsies. *J Inherit Metab Dis.* **1993**; 16: 541-544.
- Ryan AS, Nicklas BJ. Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *Diabetes Care* **2004**; 27: 1699–1705.

## S

---

- Saad AF, Virella G, Chassereau C, Boackle RJ, Lopes-Virella MF. OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res.* **2006**; 47: 1975-1983.
- Saad MJ, Folli F, Kahn JA, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *J Clin Invest* **1993**; 92: 2065–72.
- Salonen JT, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *The Lancet* **1992**; 339: 883-887
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* **2001**; 414: 799-806.
- Samad F, Yamamoto K, Loskutoff DJ. Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue in vivo. Induction by tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide. *J. Clin. Invest.* **1996**; 97: 37–46.
- Sambanthamurthi R, Sundram K, Tan Y. Chemistry and biochemistry of palm

- oil. *Prog Lipid Res.* **2000**; 39(6):507-58.
- Samuel VT, Liu ZX, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* **2004**; 279(31): 32345-32353.
- Samuel VT, Liu ZX, Wang A, Beddow SA, Geisler JG, Kahn M, Zhang XM, Monia BP, Bhanot S, Shulman GI. Inhibition of protein kinase C epsilon prevents hepatic insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* **2007**; 117(3): 739-745.
- Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet.* **2010**; 375(9733): 2267-77.
- Samuel VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* **2011**; 22: 60-65.
- Sanchis-Gomar F, García-Giménez JL, Gómez-Cabrera MC, Pallardó FV. Mitochondrial biogenesis in health and disease. Molecular and therapeutic approaches. *Curr Pharm Des.* **2014**; 20(35): 5619-33.
- Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Clore JN. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* **2001**; 120(5): 1183-1192.
- Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* **2002**; 123(5): 1705-25.
- Savasta S, Comi GP, Perini MP, Lupi A, Strazzer S, Rognoni F, Rossoni R. Leigh disease: clinical, neuroradiologic, and biochemical study of three new cases with cytochrome c oxidase deficiency. *J Child Neurol* **2001**; 16(8): 608-613.
- Sazanov LA, Hinchliffe P. Structure of the hydrophilic domain of respiratory complex I from *Thermus thermophilus*. *Science.* **2006**; 311(5766): 1430-6.
- Scarpulla RC. Nuclear activators and coactivators in mammalian mitochondrial biogenesis. *Biochim Biophys Acta* **2002**; 1576(1-2): 1-14.
- Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. *J Cell Biochem* **2006**; 97: 673-683.
- Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial

- biogenesis and function. *Physiol Rev* **2008**; 88: 611-638.
- Schägger H. Respiratory chain supercomplexes of mitochondria and bacteria. *Biochim Biophys Acta*. **2002**; 1555(1-3): 154-9.
- Schägger H, Pfeiffer K. Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *EMBO J*. **2000**; 19(8): 1777-83.
- Schlame M, Hostetler KY. Cardiolipin synthase from mammalian mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. **1997**; 1348(1-2): 207-13.
- Schlame M, Ren MD. The role of cardiolipin in the structural organization of mitochondrial membranes. *Biochim Biophys Acta-Biomembr* **2009**; 1788: 2080-2083.
- Schmitz-Peiffer C. Signalling aspects of insulin resistance in skeletal muscle: mechanisms induced by lipid oversupply. *Cell Signal* **2000**; 12: 583-594.
- Schnell R. Note sur le Palmier à huile, sa répartition et sa dissémination dans la région forestière. *Notes Africaines IFAN Dakar*. **1946**; 31: 30-31.
- Scholz RW, Minicucci LA, Reddy CC. Effects of vitamin E and selenium on antioxidant defense in rat heart. *Biochem Mol Biol Int*. **1997**; 42(5): 997-1006.
- Schon EA, Santra S, Pallotti F, Girvin ME. Pathogenesis of primary defects in mitochondrial ATP synthesis. *Semin Cell Dev Biol* **2001**; 12(6): 441-448
- Schreiber SN, Emter R, Hock MB, Knutti D, Cardenas J, Podvinec M, Oakeley EJ, Kralli A. The estrogen-related receptor alpha (ERRalpha) functions in PPARgamma coactivator 1alpha (PGC-1alpha)-induced mitochondrial biogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**; 101(17): 6472-6477.
- Schroeter H, Boyd C, Spencer JP, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiol Aging* **2002**; 23(5): 861-880.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C –Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentration of Alanine Aminotransferase. *Clin Chem Lab Med*. **2002a**; 40(7):718-724.

- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C – Part 5. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Aspartate Aminotransferase. *Clin Chem Lab Med.* **2002b**; 40(7): 725-733.
- Scrimshaw NS. Nutritional potential of red palm oil for combating vitamin A deficiency. *Food Nutr. Bull.* **2000**; 21: 195–201.
- Selvaduray KR, Radhakrishnan AK, Kutty MK, Nesaretman K. Palm tocotrienols decrease levels of proangiogenic markers in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and murine mammary cancer cells. *Genes Nutr.* **2012**; 7: 53–61.
- Selvaraj N, Bobby Z, Sathiyapriya V. Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an *in vitro* study on human erythrocytes. *Clin Chim Acta*, **2006**; 366: 190-195.
- Sen CK, Khanna S, Roy S, Parker L. Molecular basis of vitamin E action: Tocotrienol potently inhibits glutamate-induced pp60c-Src kinase activation and death of HT4 neuronal cells. *J. Biol. Chem.* **2000**; 275: 13049–13055.
- Sen CK, Khanna S, Roy S. Tocotrienols in health and disease: The other half of the natural vitamin E family. *Mol. Asp. Med.* **2007**; 28: 692–728.
- Sen CK, Rink C, Khanna S. Palm oil-derived natural vitamin e alpha-tocotrienol in brain health and disease. *J Am Coll Nutr* **2010**; 29: 314S-23S.
- Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Koniaris LG, Furlanetto RW, Mooney RA. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem* **2003**; 278(16): 13740-13746.
- Sentman ML, Granstrom M, Jakobson H, Reaume A, Basu S, Marklund SL. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase. *J Biol Chem* **2006**; 281: 6904-6909.

- Sentürker S, Karahalil B, Inal M, Yilmaz H, Müslümanoğlu H, Gedikoglu G, Dizdaroglu M. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme levels in childhood acute lymphoblastic leukemia. *FEBS Lett.* **1997**; 416(3): 286-90.
- Serviddio G, Bellanti F, Vendemiale G. Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med.* **2013**; 65: 952-68.
- Seymour GL. Borwandow's town, Pessey (Liberia), letter 1 April 1858. *African Repository.* **1858**; 45: 245-249.
- Shekelle RB, Shryock AM, Paul O. Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. The western electric study. *N Engl J Med.* **1981**; 304: 65-70.
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzamelis I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* **2006**; 116(11): 3015-3025.
- Shi J, Zhang Y, Gu W, Cui B, Xu M, Yan Q, Wang W, Ning G, Hong J. Serum liver fatty acid binding protein levels correlate positively with obesity and insulin resistance in Chinese young adults. *PLoS One.* **2012**; 7(11): e48777.
- Shibata A, Nakagawa K, Sookwong P, Tsuzuki T. Tumor anti-angiogenic effect and mechanism of action of d tocotrienol. *Biochem. Pharmacol.* **2008**; 76: 330– 339.
- Shibata A, Nakagawa K, Kawakami Y, Tsuzuki T, Miyazawa T. Suppression of gamma-tocotrienol on UVB induced inflammation in HaCaT keratinocytes and HR-1 hairless mice via inflammatory mediators multiple signaling. *J. Agric. Food Chem.* **2010**; 58: 7013–7020.
- Shimano H, Horton JD, Hammer RE, Shimomura I, Brown MS, Goldstein JL. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J Clin Invest* **1996**; 98: 1575-84.
- Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL.

- Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* **1997**; 99: 846-54.
- Shimizu I, Aprahamian T, Kikuchi R, Shimizu A, Papanicolaou KN, MacLauchlan S, Maruyama S, Walsh K. Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. *J Clin Invest*. **2014**; 124(5): 2099-112.
- Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature* **1999a**; 401: 73-76.
- Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *J Biol Chem* **1999b**; 274(42): 30028-30032.
- Shiwaku K, Nogi A, Anuurad E, Kitajima K, Enkhmaa B, Shimono K, Yamane Y. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int J Obes Relat Metab Disord*. **2003**; 27(9): 1028-36.
- Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology* **2007**; 132(6): 2169-2180.
- Shortreed KE, Krause MP, Huang JH, Dhanani D, Moradi J, Ceddia RB, Hawke TJ. Muscle-specific adaptations, impaired oxidative capacity and maintenance of contractile function characterize diet-induced obese mouse skeletal muscle. *PLoS One*. **2009**; 4(10): e7293.
- Siegel D, Bolton EM, Burr JA, Liebler DC, Ross D. The reduction of alpha-tocopherolquinone by human NAD(P)H: quinone oxidoreductase: the role of alpha-tocopherolhydroquinone as a cellular antioxidant. *Mol Pharmacol* **1997**; 52(2): 300-305.
- Siegel D, Ross D. Immunodetection of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radic Biol Med* **2000**; 29(3-4): 246-253.
- Siegel D, Yan C, Ross D. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in the sensitivity and resistance to antitumor quinones. *Biochem Pharmacol* **2012**; 83(8): 1033-1040.
- Signorini C, De Felice C, Durand T, Oger C, Galano JM, Leoncini S, Pecorelli

- A, Valacchi G, Ciccoli L, Hayek J. Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a model of autism spectrum disorder. *Oxid Med Cell Longev* **2013**; 343824(10): 13.
- Simic MG, Jovanovic SV. Antioxidation mechanisms of uric acid. *Journal of the American Chemical Society* **1989**; 111(15): 5778-5782.
- Simon-Szabó L, Kokas M, Mandl J, Kéri G, Csala M. Metformin Attenuates Palmitate-Induced Endoplasmic Reticulum Stress, Serine Phosphorylation of IRS-1 and Apoptosis in Rat Insulinoma Cells. *PLoS ONE* **2014**; 9: e97868–e97875.
- Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr.* **2005**; 25: 151-74.
- Siri-Tarino PW, Sun Q, Hu FB, Krauss RM. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, **2010**; 91: 535-546.
- Smith U. Impaired ('diabetic') insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance--is insulin resistance initiated in the adipose tissue? *Int J Obes Relat Metab Disord.* **2002**; 26: 897-904.
- Solis WA, Dalton TP, Dieter MZ, Freshwater S, Harrer JM, He L, Shertzer HG, Nebert DW. Glutamate-cysteine ligase modifier subunit: mouse Gclm gene structure and regulation by agents that cause oxidative stress. *Biochem Pharmacol.* **2002**; 63(9): 1739-54.
- Song BL, Boyd RAD. Insign-dependent ubiquitination and degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase stimulated by d-and g tocotrienols. *J. Biol. Chem.* **2006**; 281: 25054–25061.
- Song XQ, Lv LX, Li WQ, Hao YH, Zhao JP. The interaction of nuclear factor-kappa B and cytokines is associated with schizophrenia. *Biol Psychiatry.* **2009**; 65(6): 481-8.
- Souganidis E, Laillou A, Leyvraz M, Moench-Pfanner R. A comparison of retinyl palmitate and red Palm Oil  $\beta$ -carotene as strategies to address Vitamin A deficiency. *Nutrients* **2013**; 15: 3257–3271.
- Srere P.A. Citrate synthase. *Meth. Enzymol.* **1969**; 13: 3-11

- Stavrovskaya IG, Bird SS, Marur VR, Sniatynski MJ, Baranov SV, Greenberg HK, Porter CL, Kristal BS. Dietary macronutrients modulate the fatty acyl composition of rat liver mitochondrial cardiolipins. *J Lipid Res.* **2013**; 54(10): 2623-35.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* **2001**; 409: 307–312.
- Stevnsner T, Thorslund T, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol.* **2002**; 37: 1189-96.
- Stock D, Leslie AG, Walker JE. Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science* **1999**; 286: 1700-1705.
- Storch J, Corsico B. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. *Annu. Rev. Nutr.* **2008**; 28: 73–95.
- Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, Else PL. Diet composition and insulin action in animal models. *Br. J. Nutr.* **2000**; 83: S85–S90.
- Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes.* **1991**; 40: 280-9.
- Storz P, Toker A. NF-kappaB signaling--an alternate pathway for oxidative stress responses. *Cell Cycle* **2003**; 2(1): 9-10.
- St-Pierre J, Lin J, Krauss S, Tarr PT, Yang R, Newgard CB, Spiegelman BM. Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells. *J.Biol.Chem.* **2003**; 278: 26597-26603.
- Stratton J, Godwin M. The effect of supplemental vitamins and minerals on the development of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Fam Pract* **2011**; 28: 243–252.
- Stuijvenberg MEV, Benade AJS. South Africa experience with the use of red palm oil to improve the vitamin A status of primary schoolchildren. *Food Nutr. Bull.* **2000**; 21: 212-214.

- Suarna C, Hood RL, Dean RT, Stocker R. Comparative antioxidant activity of tocotrienols and other natural lipid-soluble antioxidants in a homogeneous system, and in rat and human lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta.* **1993**; 1166: 163-170.
- Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, Miyauchi K. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clin Chem.* **1995**; 41(5): 717-23.
- Summers SA. Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res* **2006**; 45: 42-72.
- Sunderman FW, Marzouk A, Hopfer SM, Zaharia O, Reid MC. Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Ann Clin Lab Sci.* **1985**; 15: 229-236.
- Sundram K, Ismail A, Hayes KC, Jeyamalar R, Pathmanathan R. Trans (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans. *J. Nutr.* **1997**; 127: 514S-520S.
- Sundram K, Sambanthamurthi R, Tan YA. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pac J clin Nutr.* **2003**; 12(3):355-62.
- Suzana M, Suhana M, Zalinah A, Gapor MT, Wan Ngah WZ. Comparative effects of alpha-tocopherol and gamma-tocotrienol on lipid peroxidation status in Hep G2 cell line transfected with CYP2E1 gene. *Eur. J. Sci. Res.* **2005**; 7: 41-56.
- Suzuki K, Ito Y, Inoue T, Hamajima N. Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clin Nutr.* **2011**; 30(3): 369-75.
- Swaine MD. Characteristics of dry forest in West Africa and the influence of fire. *J. Vegetation Sc.* **1992**; 3: 365-374.
- Swaine MD, Hall JB. Forest structure and dynamics. In Lawson, G.W. ed. *Plant Ecology in West Africa.* **1986**; 47-93.

- Tager JM, Wanders RJ, Groen AK, Kunz W, Bohnensack R, Kuster U, Letko G, Bohme G, Duszynski J, Wojtczak L. Control of mitochondrial respiration. *FEBS Lett* **1983**; 151: 1-9.
- Taguchi K, Motohashi H, Yamamoto M. Molecular mechanisms of the Keap1-Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution. *Genes Cells* **2011**; 16(2): 123-140.
- Takayama S, White MF, Kahn CR. Phorbol ester-induced serine phosphorylation of the insulin receptor decreases its tyrosine kinase activity. *J Biol Chem* **1988**; 263: 3440-47.
- Takeuchi H, Nakamoto T, Mori Y, Kawakami M, Mabuchi H, Ohishi Y, Ichikawa N, Koike A, Masuda K. Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* **2001**; 65(8): 1748-54.
- Tamimi RM, Hankinson SE, Campos H, Spiegelman D. Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and risk of breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* **2005**; 161: 153-160.
- Tan B, Grady CM, Gawienowski AM. Hydrocarbon carotenoid profiles of palm oil processed fractions. *JAOCS* **1986**; 63:1175-1179.
- Tang H, Dong X, Hassan M, Abbruzzese JL, Li D. Body mass index and obesity- and diabetes-associated genotypes and risk for pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **2011**; 20(5): 779-92.
- Tan KK, Oh FCH. Malaysian Palm Oil – Chemical and Physical Characteristics. PORIM Technol. Palm Oil Research Institute of Malaysia No.3 **1981**.5p
- Tan YA, Sundram K, Sambanthamurthi R. Water soluble phenolics from the palm oil industry. In *Biologically-active Phytochemicals in Food: Analysis, Metabolism, Bioavailability and Function*. Pfannhauser W, Fenwick GR, Khokhar S, eds. Cambridge: *The Royal Society of Chemistry* **2001**; 269:548-551.
- Tarmizi AHA, Lin SW. Quality assessment of palm products upon prolonged heat treatment. *J Oleo Sci* **2008**; 57: 639-48.

- Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* **2005**; 6: 389-402.
- Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* **2013**; 93(1): 359-404.
- Teng KT, Nagapan G, Cheng HM, Nesaretnam K. Palm olein and olive oil cause a higher increase in postprandial lipemia compared with lard but had no effect on plasma glucose, insulin and adipocytokines. *Lipids.* **2011**; 46(4): 381-8.
- Tepsic V, Ristic V, Ristic D, Vasiljevic N, Pecelj-Gec M. Heart phospholipid content and fatty acid composition in the rat after feeding different lipid supplemented diets. *Physiol Res.* **1998**; 47: 413–418.
- Theodoratou E, McNeill G, Cetnarskyj R, Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, Porteous M, Dunlop M, Campbell H. Dietary fatty acids and colorectal cancer: A case-control study. *Am. J. Epidemiol.* **2007**; 166: 181–195.
- Tholstrup T, Hjerpsted J, Raff M. Palm olein increases plasma cholesterol moderately compared with olive oil in healthy individuals. *Am J Clin Nutr.* **2011**; 94(6): 1426-32.
- Thomas AS. The oil palm in Uganda. *East Afr. Agr.J.* **1936**; 2: 5-11.
- Thomas EL, Hamilton G, Patel N, O'Dwyer R, Doré CJ, Goldin RD, Bell JD, Taylor-Robinson SD. Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut* **2005**; 54(1): 122-127.
- Thorn SL, Gollob MH, Harper ME, Beanlands RS, Dekemp RA, Dasilva JN. Chronic AMPK activity dysregulation produces myocardial insulin resistance in the human Arg302Gln-PRKAG2 glycogen storage disease mouse model. *EJNMMI Res.* **2013**; 3(1): 48.
- Tiahou G, Maire B, Dupuy A, Delage M, Vernet M, Mathieu-Daude J, Michel F, Sess E, Cristol J. Lack of oxidative stress in a selenium deficient area in Ivory Coast: Potential nutritional antioxidant role of crude palm oil. *European Journal of Nutrition.* **2004**; 43 (6): 367-374.
- Tilg H. Obesity, metabolic syndrome, and microbiota: multiple interactions. *J Clin Gastroenterol.* **2010**; 44(1): S16-8
- Tiranti V, Savoia A, Forti F, D'Apollito MF, Centra M, Rocchi M, Zeviani M.

- Identification of the gene encoding the human mitochondrial RNA polymerase (hmtRPOL) by cyberscreening of the Expressed Sequence Tags database. *Hum Mol Genet* **1997**; 6(4): 615-625.
- Tomeo AC, Geller M, Watkins TR, Gapor A, Bierenbaum ML. Antioxidant effects of tocotrienols in patients with hyperlipidemia and carotid stenosis. *Lipids* **1995**; 30: 1179-83.
- Toniola P, Kappel ALV, Akhmedkhanov A, Ferrari P. Serum carotenoids and breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* **2001**; 153: 1142-1147.
- Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J, Moretti M, Franzoso G. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell Biol.* **2012**; 22(11): 557-66
- Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc.* **2001**; 60: 329-39.
- Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nutr.* **2004**; 92: 347-355.
- Tremblay A, Chaput JP. About unsuspected potential determinants of obesity. *Appl Physiol Nutr Metab.* **2008**; 33(4): 791-6.
- Trinder P. Determination of blood glucose using 4-Amino phenazone as oxygen acceptor. *J Clin Pathol.* **1969**; 22: 246
- Trichopoulou A, Lagiou P, Kuper H, Trichopoulos D. Cancer and Mediterranean Dietary traditions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2000**; 9: 869e73.
- Truswell AS. Comparing palmolein with different predominantly monounsaturated oils: Effect on plasma lipids. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2000**; 51: S73-S77.
- Tsao CY, Mendell JR, Bartholomew D. High mitochondrial DNA T8993G mutation (<90%) without typical features of Leigh's and NARP syndromes. *J Child Neurol* **2001**; 16(7): 533-535
- Tsubura A, Yuri T, Yoshizawa K, Uehara N, Takada H. Role of fatty acids in malignancy and visual impairment: epidemiological evidence and experimental studies. *Histol Histopathol* **2009**; 24: 223-234.
- Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-

Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yoshikawa S. The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science*. **1996**; 272(5265): 1136-44.

Turcotte LP, Swenberger JR, Zavitz Tucker M, Yee AJ. Increased fatty acid uptake and altered fatty acid metabolism in insulin-resistant muscle of obese Zucker rats. *Diabetes*. **2001**; 50: 1389-96.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. **2006**; 444(7122): 1027-31.

## U

---

Unger RH. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes* **1995**; 44: 863–870.

USDA. Foreign Agricultural Service, Office of Global Analysis. February **2013**; 26p

USDA. Foreign Agricultural Service, Office of Global Analysis. February **2017**; 36p

Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, Ishizaka N, Griendling KK. p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. **1996**; 271(38): 23317-21.

Utarwuthipong T, Komindr S, Pakpeankitvatana V, Songchitsomboon S, Thongmuang N. Small dense low-density lipoprotein concentration and oxidative susceptibility changes after consumption of soybean oil, rice bran oil, palm oil and mixed rice bran/palm oil in hypercholesterolaemic women. *J. Int. Med. Res*. **2009**; 37: 96–104.

Utzschneider KM, Kahn SE. The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**; 91: 4753–61.

## V

---

Valenzuela R, Barrera C, Espinosa A, Llanos P, Orellana P, Videla LA.

- Reduction in the desaturation capacity of the liver in mice subjected to high fat diet: Relation to LCPUFA depletion in liver and extrahepatic tissues. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. **2015**; 98: 7-14.
- Valero T. Mitochondrial biogenesis: pharmacological approaches. *Curr Pharm Des*. **2014**; 20(35): 5507-9.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* **2006**; 160(1): 1-40.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, **2007**; 39: 44-84.
- Van Amelsvoort JM, van der Beek A, Stam JJ. Effects of the type of dietary fatty acid on the insulin receptor function in rat epididymal fat cells. *Ann. Nutr. Metab.* **1986**; 30: 273–280.
- van den Broek NM, Ciapaite J, De Feyter HM, Houten SM, Wanders RJ, Jeneson JA, Nicolay K, Prompers JJ. Increased mitochondrial content rescues in vivo muscle oxidative capacity in long-term high-fat-diet-fed rats. *FASEB J*. **2010**; 24(5): 1354-64.
- Van Dielen FM, Buurman WA, Hadfoune M, Nijhuis J, Greve JW. Macrophage inhibitory factor, plasminogen activator inhibitor-1, other acute phase proteins, and inflammatory mediators normalize as a result of weight loss in morbidly obese subjects treated with gastric restrictive surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**; 89: 4062–4068.
- Vartak R, Porras CA, Bai Y. Respiratory supercomplexes: structure, function and assembly. *Protein Cell*. **2013**; 4(8): 582-90.
- Vasanthi HR, Parameswari RP, Das DK. Multifaceted role of tocotrienols in cardioprotection supports their structure: function relation. *Genes Nutr*. **2012**; 7: 19-28.
- Vega-López S, Ausman LM, Jalbert SM, Erkkilä AT, Lichtenstein AH. Palm and partially hydrogenated soybean oils adversely alter lipoprotein profiles compared with soybean and canola oils in moderately hyperlipidemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **2006**; 84: 54–62.
- Ventura-Clapier R, Kaasik A, Veksler V. Structural and functional adaptations

- of striated muscles to CK deficiency. *Mol Cell Biochem* **2004**; 257: 29-41.
- Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. **1996**; 93(25): 14960-5.
- Verma DD, Hartner WC, Thakkar V, Levchenko TS, Torchilin VP. Protective effect of coenzyme Q10-loaded liposomes on the myocardium in rabbits with an acute experimental myocardial infarction. *Pharm. Res.* **2007**; 24: 2131-2137.
- Verma IM, Stevenson JK, Schwarz EM, Van Antwerp D, Miyamoto S. Rel/NF-kappa B/I kappa B family: intimate tales of association and dissociation. *Genes Dev.* **1995**; 9(22): 2723-35.
- Verschuren WM, Jacobs DR, Bloemberg BP, Kromhout D, Menotti A, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *J. Am. Med. Assoc.* **1995**; 274: 131-136.
- Villiers JF. Formations climaciques et rélictuelles d'un Inselberg inclus dans la forêt dense Camerounaise. *Thèse Sciences, Univ. Paris.* **1981**; 501 p.
- Vincent-Baudry S, Defoort C, Gerber M, Bernard MC, Verger P, Helal O. The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* **2005**; 82: 964e71.
- Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obesity*, **2006**; 30: 400-418.
- Virbasius JV, Virbasius CA, Scarpulla RC. Identity of GABP with NRF-2, a multisubunit activator of cytochrome oxidase expression, reveals a cellular role for an ETS domain activator of viral promoters. *Genes Dev.* **1993**; 7: 380-392.
- Virdis A, Neves MF, Duranti E, Bernini G, Taddei S. Microvascular endothelial dysfunction in obesity and hypertension. *Curr Pharm Des.* **2013**; 19(13): 2382-9.

- Visioli F, Caruso D, Grande S, Bosisio R, Villa M, Galli G. Virgin Olive Oil Study (VOLOS): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients. *Eur J Nutr* **2005**; 44: 121e7.
- Vogt C, Ardehali H, Iozzo P, Yki-Jarvinen H, Koval J, Maezono K, Pendergrass M, Printz R, Granner D, DeFronzo R, Mandarino L. Regulation of hexokinase II expression in human skeletal muscle in vivo. *Metabolism*. **2000**; 49: 814-8.
- Vonck J, Schafer E. Supramolecular organization of protein complexes in the mitochondrial inner membrane. *Biochim Biophys Acta*. **2009**; 1793: 117-124.
- Voshol PJ, Haemmerle G, Ouwens DM, Zimmermann R, Zechner R, Teusink B, Maassen JA, Havekes LM, Romijn JA. Increased hepatic insulin sensitivity together with decreased hepatic triglyceride stores in hormone-sensitive lipase-deficient mice. *Endocrinology* **2003**; 144(8): 3456-3462.

## **W**

---

- Walker AA. Distribution du palmier à huile au Gabon. *Rev. Int. Bota. Appli. Agri. Trop.* **1953**; 369/370: 355-360.
- Walrand S, Fisch F, Bourre JM. Tous les acides gras saturés ont-ils le même effet métabolique ? *Nutr Clin Metab* **2010**; 24:63-75.
- Wang C, Li Z, Lu Y, Du R, Katiyar S, Yang J, Fu M, Leader JE, Quong A, Novikoff PM, Pestell RG. Cyclin D1 repression of nuclear respiratory factor 1 integrates nuclear DNA synthesis and mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2006a**; 103 (31): 11567-72
- Wang CC, Goalstone ML, Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes*. **2004**; 53: 2735-40.
- Wang CY, Chau LY. Heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical perspectives. *Chang Gung Med J* **2010**; 33(1): 13-24.
- Wang H, Knaub LA, Jensen DR, Young Jung D, Hong EG, Ko HJ, Coates AM,

- Goldberg IJ, de la Houssaye BA, Janssen RC, McCurdy CE, Rahman SM, Soo Choi C, Shulman GI, Kim JK, Friedman JE, Eckel RH: Skeletal muscle-specific deletion of lipoprotein lipase enhances insulin signaling in skeletal muscle but causes insulin resistance in liver and other tissues. *Diabetes* **2009**; 58: 116-124.
- Wang Y, Botolin D, Xu J, Christian B, Mitchell E, Jayaprakasam B, Nair MG, Peters JM, Busik JV, Olson LK, Jump DB. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. *J Lipid Res* **2006b**; 47(9): 2028-2041.
- Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**; 81: 555–563
- Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH. Alcohol and adiposity: effects of quantity and type of drink and time relation with meals. *International Journal of Obesity* **2005**; 29(12): 1436–44.
- Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med.* **1990**; 113(12): 909-15.
- Watson RT, Pessin JE. GLUT4 translocation: the last 200 nanometers. *Cell Signal* **2007**; 19: 2209–17.
- Wattanapenpaiboon N, Wahlqvist ML. Phytonutrient deficiency: the place of palm fruit. *Asia Pac. J Clin Nutr.* **2003**; 12(3): 363-8.
- Wei Y, Wang D, Topczewski F, Passagliotti MJ. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* **2006**; 291: E275–E281.
- Wharton DC, Tzagoloff A. Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Methods Enzymol.* **1967**; 10: 245–250
- Wiesner RJ, Kurowski TT, Zak R. Regulation by thyroid hormone of nuclear and mitochondrial genes encoding subunits of cytochrome-c oxidase in rat liver and skeletal muscle. *Mol Endocrinol* **1992**; 6: 1458-1467.
- Wikstrom M, Verkhovsky MI. Mechanism and energetics of proton

- translocation by the respiratory heme-copper oxidases. *Biochim Biophys Acta* **2007**; 1767(10): 1200-1214
- Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev.* **2005**; 26(2): 19-39.
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* **1996**; 49(5): 1304-13.
- Wolins NE, Brasaemle DL, Bickel PE. A proposed model of fat packaging by exchangeable lipid droplet proteins. *FEBS Lett.* **2006**; 580: 5484–5491.
- Wong CG, Bottiglieri T, Snead OC. GABA, gamma-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Ann Neurol* **2003**; 54(6): S3-12.
- Wong RSY, Radhakrishnan AK. Tocotrienol research: past into present. *Nutr Rev.* **2012**; 70: 483-90.
- Wong WY, Selvaduray KR, Ming CH, Nesaretnam K. Suppression of tumor growth by palm tocotrienols via the attenuation of angiogenesis. *Nutr. Cancer* **2009**; 61: 367–373.
- World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/ACIR). Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR. **2007**.
- Wu CH, Lin JA, Hsieh WC, Yen GC. Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro. *J Agric Food Chem* **2009**; 57(11): 5058-5064.
- Wu SJ, Liu PL, Ng LT. Tocotrienol-rich fraction of palm oil exhibits anti-inflammatory property by suppressing the expression of inflammatory mediators in human monocytic cells. *Mol Nutr Food Res.* **2008**; 52(8): 921-9.
- Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell B, Scarpulla RC, Spiegelman BM. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* **1999**; 98(1): 115-124.

**X**

---

Xin YN, Xuan SY, Zhang JH, Zheng MH, Guan HS. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: a specific liver drug for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Med Hypotheses* **2008**; 71: 820-821.

**Y**

---

Yahagi N, Shimano H, Hasty AH, Matsuzaka T, Ide T, Yoshikawa T, Amemiya-Kudo M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Osuga J, Harada K, Gotoda T, Nagai R, Ishibashi S, Yamada N. Absence of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) ameliorates fatty livers but not obesity or insulin resistance in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *J Biol Chem* **2002**; 277(22): 19353-19357.

Yam ML, Abdul Hafid SR, Cheng HM, Nesaretnam K. Tocotrienols suppress proinflammatory markers and cyclooxygenase-2 expression in RAW264.7 macrophages. *Lipids* **2009**; 44: 787-797.

Yamada Y, Obayashi M, Ishikawa T, Kiso Y. Dietary tocotrienol reduces UVB-induced skin damage and sesamin enhances tocotrienol effects in hairless mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* **2008**; 54: 117-123.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.* **2002**; 8: 1288-1295.

Yang M, Wei D, Mo C, Zhang J, Wang X, Han X, Wang Z, Xiao H. Saturated fatty acid palmitate-induced insulin resistance is accompanied with myotube loss and the impaired expression of health benefit myokine genes in C2C12 myotubes. *Lipids Health Dis.* **2013**; 12: 104-113.

Yap SC, Choo YM, Ooi CK. Quantitative analysis of carotenes in the oil from different palm species. *Elaeis* **1997**; 3:369-378.

Yap WN, Chang PN, Han HY. Gamma-tocotrienol suppresses prostate cancer

- cell proliferation and invasion through multiple-signalling pathways. *Br J Cancer*. **2008**; 99: 1832–1841
- Yau YHC, Potenza MN. Stress and Eating Behaviors. *Minerva endocrinol*. **2013**; 38(3): 255-267.
- Yoshihara D, Fujiwara N, Suzuki K. Antioxidants: benefits and risks for long-term health. *Maturitas* **2010**; 67(2): 103-107.
- Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Tsukihara T, Shimokata K, Katayama Y, Shimada H. Proton pumping mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase. *Biochim Biophys Acta*. **2006**; 1757(9-10): 1110-6.
- Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* **2002**; 277: 50230-50236.
- Yueh MF, Tukey RH. Nrf2-Keap1 signaling pathway regulates human UGT1A1 expression in vitro and in transgenic UGT1 mice. *J Biol Chem*. **2007**; 282(12): 8749-58.
- Yuzefovych LV, Musiyenko SI, Wilson GL, Rachek LI. Mitochondrial DNA damage and dysfunction, and oxidative stress are associated with endoplasmic reticulum stress, protein degradation and apoptosis in high fat diet-induced insulin resistance mice. *PLoS One* **2013**; 8: e54059.

## **Z**

---

- Zeven AC. The semi-wild oil palm and its industry in Africa. *Agricult. Research Rep.*, **1967**; 689: 178 p.
- Zeviani M, Amati P, Bresolin N, Antozzi C, Piccolo G, Toscano A, Di Donato S. Rapid detection of the A-G(8344) mutation of mtDNA in Italian families with myoclonus epilepsy and ragged-red fibers (MERRF). *Am J Hum Genet* **1991**; 48(2): 203-211
- Zhang S, Hunter DJ, Forman M R, Rosner BA. Dietary carotenoids and

- vitamins A, C, and E and risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**; 91: 547–556.
- Zhou M, Xu A, Tam PK, Lam KS, Chan L, Hoo RL, Liu J, Chow KH, Wang Y. Mitochondrial dysfunction contributes to the increased vulnerabilities of adiponectin knockout mice to liver injury. *Hepatology* **2008**; 48: 1087–1096.
- Zhu H, Zhang L, Amin AR, Li Y. Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med (Maywood)* **2008**; 233(6): 753-765.
- Zurlo F, Larson K, Bogardus C, Ravussin E. Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. *The Journal of Clinical Investigation* **1990**; 86 (5): 1423-1427.

**PUBLICATION**

## **Comparative effects of palm oils versus Mediterranean virgin olive oil on whole body and hepatic parameters in rats.**

Youzan Ferdinand Djohan<sup>1</sup>, Eric Badia\*<sup>1</sup>, Beatrice Bonafos<sup>2</sup>, Gilles Fouret<sup>2</sup>, Céline Lauret<sup>1</sup>, Anne-Marie Dupuy<sup>3</sup>, Edith Pinot<sup>3</sup>, Thibault Sutra<sup>3</sup>, Sylvie Gaillet<sup>2</sup>, Karen Lambert<sup>1</sup>, Fabrice Raynaud<sup>1</sup>, Nathalie Gayrard<sup>5</sup>, Bernard Jover<sup>1</sup>, Jorys Vidé<sup>2</sup>, Absalome Aké Monde<sup>4</sup>, Jean Paul Cristol<sup>3</sup>, Charles Coudray<sup>2</sup>, Christine Feillet-Coudray<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PhyMedExp, Université de Montpellier, INSERM U1046, CNRS UMR 9214.

<sup>2</sup> DMEM, INRA, Univ. Montpellier, Montpellier, France 34295 Montpellier cedex 5.

<sup>3</sup>CHU-Lapeyronie, Montpellier France,

<sup>4</sup>Laboratoire de Biochimie, CHU, Université Félix Houphouët-Boigny. Cocody, Côte d'Ivoire.

<sup>5</sup>EA7288, Université de Montpellier, Montpellier, France 34295 Montpellier cedex 5.

**Running title:** comparative effects of palm and olive oils.

\*Corresponding author

Dr Eric BADIA, PhyMedExp, INSERM U1046, CNRS UMR 9214, 34295 Montpellier, France

Tel: 33 4 11 75 98 92; Fax: 33 4 67 33 59 23

Email : [eric.badia@umontpellier.fr](mailto:eric.badia@umontpellier.fr);

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to compare the effects of high fat diets (HFD) containing palm oil (crude (CPO) or refined (RPO)) or extra virgin olive oil (EVOO) on whole body and hepatic health. Four groups of male Wistar rats were fed either control diet (11.6% energy from fat) or 3 high-fat diets (56.1% energy from fat) rich in CPO or RPO or EVOO, during 12 weeks. Major negative effects of HFD with palm oil diet concerned glucose metabolism and liver fatty acid composition, whereas that with EVOO diet concerned hepatic TG accumulation, inflammation and cytolysis. HFD with palm oil did not show worse effects than with EVOO concerning: total weight, oxidative stress, inflammation, hepatic cytolysis and steatosis. Some adverse hepatic effects of EVOO diet that may be a consequence of its obesogenic nature, should not be transposed to normal consumption of this oil.

**Keywords:** Palm oil, olive oil, high-fat diet, liver, steatosis, mitochondria, oxidative stress, inflammation, steatosis.

## **INTRODUCTION**

Palm oil (PO) contributes significantly to the supply of oil around the world and accounted for 32% (including palm kernel oil) of global fat production in 2012 <sup>1</sup>. The crude semi-solid palm oil (CPO, also known as red palm oil), directly extracted from the palm fruit mesocarp, contains a very high level of carotenoids in addition with tocopherols, tocotrienols, phytosterols, all of these compounds being considered as healthy beneficial components <sup>2,3</sup>. In order to remove some undesirable products such as gums, lipid oxidation products, phospholipids and free fatty acids, this CPO is further refined in a multistep procedure. After a fractionation step, two main fractions are separated, a colorless liquid one called palm olein (RPO) and a solid one called palm stearin, the latter containing a higher level of saturated fatty acids.<sup>1</sup> For a very long time, palm oil has been a major source of cooking, first in West Africa and thereafter in Asia. Beside, in western countries, there has been some confusion concerning the so called “palm oil” because the fraction that

is currently used in food (cakes, puff pastries biscuits, fat spreads and so on) is the stearin one, whereas palm olein is practically not sold.

The high saturated fatty acids (SFA) content and particularly that of palmitic acid in PO has been the focus of attention concerning effects on cardiovascular diseases (CVD) and coronary heart disease (CHD).<sup>4, 5</sup> However, beside these effects of diets on CVD that were abundantly documented, far less studies were devoted to the study of palm oil on liver metabolism. Yet, sedentary lifestyle associated with excess fat consumption contribute in a growing number of countries to the development of obesity-related disorders among which fatty liver disease is an important part.<sup>6</sup> In such organ, if the rate of uptake and synthesis of fatty acids exceeds the rate of oxidation and secretion, that is generally the case for high-fat diets (HFD), a non alcoholic hepatic steatosis (NAFLD) that is generally accompanied by oxidative stress and inflammation, may occur.<sup>7</sup> In addition, dietary fats with different lipid composition may differently influence the liver response.<sup>8</sup>

In Mediterranean region, a lower prevalence of CVD as well as hepatic disorders has been observed and partially attributed to a regular intake of olive oil.<sup>9, 10</sup> This has been the basis for a significant number of studies concerning health benefits of olive oil.<sup>11-13</sup>

This work was designed to evaluate the effects of palm oil (crude and refined) and EVOO, on liver parameters linked to oxidative stress, inflammation, steatosis and mitochondrial function. The novelty of this work is the comparison in the same study of crude and refined oil with olive oil which is now considered as a gold standard of Mediterranean diet in western countries.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals and diets**

Thirty-two male Wistar rats (Charles River, L'Arbresle, France) aged 6 weeks were used in this study. Rats were housed under conditions of constant temperature (20-22°C), humidity (45-50%) and a standard dark cycle (20.00-

08.00 hours). The rats were randomized into four groups of animals and fed 12 weeks one of the following semi-purified diets: 1) control diet (CT), containing 5% lipid as soybean oil (11.6% energy from fat), 2) HFD (56.1% energy from fat) rich in CPO with 2.5% lipid as soybean oil and 30% lipid as CPO, 3) HFD rich in RPO with 2.5% lipid as soybean oil and 30% lipid as RPO or 4) HFD rich in EVOO with 2.5% lipid as soybean oil and 30% lipid as EVOO. The detailed composition of these four diets is given in Table 1. Fatty acid composition of oils are detailed in Supplemental Table 2.

Rats were given free access to distilled water and food. Body growth was determined weekly. Our institution guidelines for the care and use of laboratory animals were observed and that all experimental procedures were approved by the local ethical committee in Montpellier, France (Reference CEEA-LR-12002).

### **Intraperitoneal glucose tolerance test**

The intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) was completed seven days before rat sacrifice and performed as previously described [14](#), [15](#). Briefly, 16-hour fasting rats received by a single intraperitoneal injection 2.5g glucose/kg body weight. Blood was sampled through the tail vein of conscious rats immediately prior to the injection, and 20, 40, 60, 90, 120min afterward. Blood glucose was measured using glucose strips and a commercial glucometer (AccuChek Active, Roche Diagnostics, USA). The area under the curve (AUC) was calculated by the trapezium method. The AUC values are expressed as g glucose.L<sup>-1</sup>/120min.

### **Sampling during rat sacrifice**

One week after IPGTT, 16-hour fasted rats were anaesthetised with pentobarbital (Ceva Santé Animale, Libourne, France) and blood was obtained by puncture in the abdominal vein with a heparinized syringe (Sodium heparinate, Panpharma SA Fougères, France). Blood samples were centrifuged at 1000g for 10 min at 4°C, plasma was collected and stored at -80°C until analysis. For 15-F<sub>2t</sub>-isoprotanes analysis, plasma was stored at -80°C in the presence of 0.005% BHT.

Rat liver was quickly removed, rinsed in 0.9% NaCl solution and cut into different parts immediately frozen in nitrogen and kept at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis, except one part that was used for the immediate isolation of fresh mitochondria, whereas one part that was fixed in 10% neutral buffered formalin and embedded in paraffin for histological analysis.

### **Liver mitochondrial isolation**

Liver mitochondria were isolated from fresh liver by the differential centrifugation technique.<sup>16</sup> Briefly, about 3g of liver was homogenized in 10 volumes of sucrose buffer (Sucrose 0.25M, Tris 10mM, EDTA 0.5mM, pH 7.5) and centrifuged at 1000 g for 10min at  $4^{\circ}\text{C}$ . The supernatant was then centrifuged at 10,000g for 10min at  $4^{\circ}\text{C}$  and the pellet was suspended in 3mL of Miro5 buffer (Sucrose 110mM, HEPES 20mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  10mM, Taurine 20mM, K-Lactobionate 60mM,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  3mM, EGTA 0.5mM, BSA 1g/l, pH=7.1). Protein content was determined according to Bradford.<sup>17</sup>

### **Routine biochemical analyses**

Plasma glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were determined using standard methods on a COBAS MIRA automated analyser (Roche Diagnostics). Plasma insulin and IL-6 were quantified with ELISA kits obtained respectively from Mercodia (Mercodia, Paris, France) and Fisher Scientific (Fisher Scientific, Illkirch, France). Plasma GPx and erythrocytic SOD were measured by using respectively RANSEL and RANSOD kits (Randox, Roissy, France). Insulin resistance (IR) was evaluated by the homeostasis model of IR (HOMA-IR). The formula used was : [fasting plasma glucose level (mmol/L) x fasting plasma insulin level (mIU/L)]/22.5 <sup>18</sup>.

### **Determination of oxidative stress in liver**

Liver homogenates from frozen liver were prepared as described by Feillet-Coudray *et al.*<sup>19</sup> Lipid peroxidation levels evaluated with TBARS were measured according to the method of Sunderman *et al.*<sup>20</sup> and 15-F<sub>2t</sub>-isoprotanes by mass spectrometry. Protein oxidation was assessed by measurement of sulfhydryl groups.<sup>21</sup> Total (GSH) and oxidized glutathione (GSSG), catalase activity, glutathione peroxidase (GPx) and total superoxide

dismutase (SOD) were measured according to the method of respectively Griffit,<sup>22</sup> Beers and Sizer,<sup>23</sup> Flohe and Gunzler<sup>24</sup> and Marklund.<sup>25</sup>

### **Determination of mitochondrial respiratory complex activities in liver**

Complex-I activity (CI) was measured according to Janssen *et al.*<sup>26</sup> Complex-II (CII) and complex-II+III (CII+CIII) activities were measured according to Rustin *et al.*<sup>27</sup> Cytochrome c oxidase (COX) activity was measured according to Wharton and Tzagoloff.<sup>28</sup> Citrate synthase (CS) activity was measured according to Srere.<sup>29</sup>

### **Determination of mitochondrial membrane potential and ROS production in liver**

Mitochondrial membrane potential was monitored according to the method described by Baracca *et al.*<sup>30</sup> using Rhodamine (RH-123) as a probe. Mitochondrial potential ( $\Delta\psi$ ) changes have been evaluated by measuring RH-123 fluorescence quenching at the following steps: with RH-123 label alone (2 $\mu$ M) in MIRO5 buffer plus liver fresh mitochondria (0.25mg proteins), plus glutamate/malate/succinate (2.5/5/5mM), plus ADP (0.5mM). RH-123 fluorescence was measured at 495nm (excitation) and 525nm (emission) under continuous stirring. Mitochondrial ROS production was measured on fresh mitochondria as previously described <sup>31</sup>.

### **Hepatic NADPH oxidase activity analysis.**

Superoxide anion production was evaluated by the intensity of lucigenin-enhanced chemiluminescence measured with a Tristard 2 luminometer (Berthold, Thoiry, France) in the presence of 100 $\mu$ M NADPH and 10 $\mu$ M lucigenin in Krebs buffer. Area under the curve was calculated after subtracting signal that corresponds to the DPI inhibitor, and results were normalized with protein content.

### **Extraction and analysis of liver lipids**

Liver samples were extracted by a mixture of chloroform/methanol 2:1 (v/v) according to Folch *et al.*<sup>32</sup> applied on silica gel 60 HPTLC plates (250 $\mu$ m, 20x10cm, Merck, Germany), pretreated with 1.5% w/v boric acid in ethanol

(100%) and the development was performed first with methanol/pentane/chloroform (3/52/45, by volume), then with diethyl ether/pentane (3/97, by volume). The plates were scanned at 550 nm after dipping in a solution of copper sulfate ( $\text{CuSO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$ , 40g/20ml/230ml by volume).

### **Desaturases evaluation**

Results obtained in animals have supported the use of surrogate measures of desaturase activity such as the use of desaturase indices<sup>33</sup>. These indices are based on the ratio of the product to the precursor of individual FA. Desaturase indices were calculated as follows:  $\Delta 9 = 16:1n-7/16:0$ ;  $\Delta 6 = 18:3n-6/18:2n-6$ ;  $\Delta 5 = 20:4n-6/20:3n-6$ .

### **Immunoblotting**

Membranes were blocked in 5% non fat milk in PBS (without Tween) for 1h at room temperature. Then, membranes were incubated overnight with primary antibody (CPT1A (Abcam, Paris, France); p-ACC (Millipore, Saint Quentin en Yvelines, France); FAS, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B $\alpha$ , Akt, p-Akt, AMPK, p-AMPK, ACC, (Ozyme (Cell Signaling), Saint Quentin en Yvelines, France); Tubulin (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) in blocking buffer. After washes in PBS/Tween under gentle agitation, membranes were incubated for 45 min in the dark with the fluorescent-labeled secondary antibodies and finally quantified using the Odyssey infrared imaging system (LI-COR, Lincoln, USA).

### **Reverse transcription q-PCR analyses**

Total RNA was extracted with Trizol reagent (Invitrogen Life Technologies, Cergy Pontoise, France) by using a FastPrep-24 homogenizer (MP biomedical, Illkirch, France). Reverse transcription reactions were performed on 500 ng total RNA by using a reverse transcription Takara Kit (Takara Bio Europe, Saint-Germain-en-Laye, France) and RT-qPCR done using the LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche Applied Science, Meyland, France). Results were normalized to *Rplp0* gene. Primer sequences are given on the Supplemental Table 1.

## **Liver histopathological analyses**

**Oil Red O staining:** lipid volume fraction was determined on 5  $\mu\text{m}$ -section of frozen-liver stained with Oil Red O. The staining area was measured in a given field and expressed as a percentage of the total area within the field.

**Immunofluorescence staining:** **a)** Total macrophage population was assessed with an anti-CD68 antibody (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) diluted at 1/100, and immunostaining was performed in paraffin-embedded liver tissue. Antibody distribution was visualized by a Vecstatin® ABC kit and a ImmPACT AEC substrate kit (Clinisciences, Nanterre, France). For lipid inclusion and CD68 determination 10-20 fields per animal were analysed and results were expressed as the average percentage of surface with positive staining to total surface of the field, **b)** Nuclear NF- $\kappa$ B determination liver sections were fixed for 20 min in 4% paraformaldehyde in phosphate buffer saline (PBS) followed by three washes in PBS. They were then permeabilized in PBS supplemented with 2% BSA and 0.1% Triton X100 and incubated for 1 h at room temperature with appropriate primary antibody in the same buffer. Rabbit polyclonal anti-p65 (NF- $\kappa$ B) antibody was purchased from Cell Signaling (ref: 8242) (Cell Signaling, Saint Quentin en Yvelines, France) and used at 1/500. For double staining, anti-p65 and anti-CD68 (described above) antibodies were used together. Mouse or rabbit secondary antibody coupled to cyanine 2 or cyanine 3 (Jackson ImmunoResearch Laboratories) was added for 1 h at room temperature. DAPI was used at 1/1000 during incubation with the secondary antibody. Liver sections were observed under an AxioImager Z1 Zeiss microscope (Carl Zeiss, Marly le Roi, France). Images were acquired using the AxioImager software driving a CoolSNAP CCD camera (Photometrics, Roper Scientific, Evry, France) on 5 fields (20X) per section. Quantification was based on the mean ratio of the number of cells with positive NF- $\kappa$ B nuclear staining to the total number of nuclei (DAPI), from each field.

Image analysis was done by using ImageJ software (National Institutes of Health image, Bethesda, USA).

## **Statistical analysis**

Statistical analysis were based on one-way ANOVA followed by a Tukey Kramer multiple comparisons test. The limit of statistical significance was set at  $p=0.05$ . Statistical analyses were performed using the StatView program (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## **RESULTS**

### **Rat body and organs weights.**

Final body weight was significantly increased with the HFD whatever the type of fat (Table 2). The difference between body weight of rats fed control diet and those fed HFD was already visible since the 3<sup>rd</sup> week of diet (Figure 1). Compared to control diet, liver weight was significantly increased with the RPO and EVOO diets but, interestingly, not with the CPO diet. Moreover, when comparing only RPO and CPO diets, liver weight was almost significantly increased with RPO diet ( $p=0.0517$ ). Total adipose tissue weight was significantly increased with HFD whatever the type of fat (Table 2).

### **Blood metabolic parameters.**

The AUC, calculated after IPGTT, was significantly increased with CPO and RPO but not with EVOO diet (Table 2). Moreover, there was a trend of glucose level to be higher in all HFD groups than in control group. Plasma insulin levels, HOMA-IR, plasma lipids (triglycerides, total cholesterol and HDL-cholesterol), atherogenic index (total cholesterol/HDL-cholesterol), plasma 15-F<sub>2t</sub>-isoprotanes, TBARS, thiols levels and plasma GPx activity were not modified whatever the diet (Table 2).

In red blood cells SOD activity was significantly decreased with RPO diet by comparison to other diets (Table 2).

### **Liver mitochondrial activity and biogenesis.**

*Mitochondrial activity:* mitochondrial membrane potential was not modified whatever the diet (data not shown). Mitochondrial respiratory chain

complex I/CS and COX/CS ratio were not altered as well as CS activity for all HFD (Table 3). Complex II/CS was significantly decreased whereas complex (II+III)/CS ratio showed a trend to decrease ( $p=0.056$ ) with EVOO diet comparatively to control diet and to RPO diet

*Liver mitochondriogenesis:* *Pgc-1a* gene expression was significantly decreased with CPO and EVOO diets (Table 3), while both *Nrf1* and *Tfam* gene expression were not modified whatever the diet.

### **Liver oxidative stress and antioxidant response.**

**Oxidative stress:** liver TBARS and thiol levels did not vary significantly. Mitochondrial ROS production (data not shown) and antioxidant systems (total GSH, GSH/GSSG, Catalase, GPx, SOD) were not modified whatever the diet (Table 3).

**Antioxidant response:** ANOVA test of *Nrf2* gene expression, a nuclear factor controlling antioxidant signalling at the transcriptional level, showed a non significant trend to increase ( $p=0.07$ ). Moreover, since translocation of this factor is also a crucial parameter for its activity, we also analyzed if variations occurred for some *Nrf2* target genes. So, gene expression of *Nqo1*, an antioxidant and detoxifying enzyme involved in the two-electron reduction of a wide variety of quinones, *Ho1* (heme oxygenase 1) and *Gclc*, the first rate-limiting enzyme of glutathione synthesis were also not modified whatever the diet (data not shown).

### **Liver lipid composition, transport and metabolism.**

*Fatty acid composition:* SFA percent was slightly but significantly increased with CPO, lowered with EVOO and unchanged with RPO diet (Table 4). More specifically, when compared with control diet, palmitic acid (C16:0) percent was not modified with CPO or RPO diets and significantly lowered with EVOO diet, whereas stearic acid (C18:0) percent was slightly (but not significantly) increased with CPO, unchanged with RPO, and significantly lowered with EVOO diet. When compared to the control group, the percentage of monounsaturated oleic acid (C18:1 n-9) was significantly increased with CPO or RPO, and, as expected, increased in a greater extent with the EVOO

diet, due to the high proportion of this fatty acid in EVOO (see Supplemental Table 2). Compared to the control group, MUFA or PUFA levels were significantly increased and decreased, respectively, in all the HFD, whatever the fat. Since PUFA content of diets were slightly higher for CPO (48 g/kg), RPO (46.1g/kg) and EVOO (47.4g/kg) than for the control (31.9g/kg) diet, it appears that lipid composition of liver do not strictly correlates with the lipid composition of diets.

The unsaturation index (UI) was decreased with the three HFD, that change being significant only with CPO and EVOO diets (Table 4). Regarding the fatty acid desaturases and comparatively to the control diet,  $\Delta 9$  desaturase index was significantly lowered whatever the fat,  $\Delta 6$  desaturase index remained unchanged and  $\Delta 5$  desaturase index was significantly lowered with RPO and EVOO diet.

*Lipid transport and metabolism:* gene expression of both *Fat/Cd36* (a key protein involved in regulating the uptake of FA across the plasma membrane) and *CPT1A* (involved in mitochondrial membrane translocation of FA), were not modified whatever the diet (Figure 2A). *Fabp1* gene expression an intracellular transporter of FA, was significantly decreased with all HFD (Figure 2A). Moreover, *Fabp1* was significantly decreased with CPO and EVOO diets by comparison to RPO diet. When analysing FA synthesis enzymes, we found that ACC protein as well as p-ACC/ACC protein ratio were not significantly modified whatever the diet, albeit with a tendency for ACC to be lowered by HFD. Likewise, we must point out that for p-ACC/ACC and p-AMPK/AMPK, the power of the statistical test was insufficient and more animals should be analyzed to ascertain the lack of variation. FAS level was lowered with all diets but significance was attained only with CPO or EVOO diets (Figure 2A).

Gene expression of two key regulators of lipid metabolism, *Ppara* and *Ppar $\gamma$* , were modified differently according to the diet (Figure 2B): *Ppara* gene expression was significantly decreased with CPO diet by comparison to other diets, and that of *Ppar $\gamma$*  was significantly increased with RPO and EVOO diets by comparison to control and CPO diets. The central metabolic player AMPK

protein and the protein ratio p-AMPK/AMPK were not modified whatever the diet (Figure 2B).

### **Liver steatosis.**

Both liver TG and CE levels were significantly increased with EVOO diet by comparison with all other diets (factor almost 2 for TG and almost 3.5 for CE) (Figure 3A). The mean values of liver TG and CE for the control group were respectively 31.5 mg/g and 3.6mg/g, together representing approximately 3.5% of the liver weight. However, no significant differences ( $p=0.063$ ) between any of the groups were found after histological staining with Oil Red O staining (Figure 3B), only a trend seemed to appear between EVOO and the control groups.

### **Hepatic inflammation and cytolysis.**

Interleukin *Il1 $\beta$*  gene expression was not modified whatever the diet (Table 3), suggesting that it is not involved in this inflammatory process.

*Nf- $\kappa$ b* gene expression, a nuclear transcription factor that plays critical roles in inflammation, immunity, cell proliferation, differentiation, and survival, was significantly decreased with CPO diet by comparison to the other diets (Table 3). The nuclear factor *I $\kappa$ b-a* gene expression, an inhibitor of *Nf- $\kappa$ b* transcription factor, was significantly increased with RPO diet by comparison to control and CPO diets. However, since the nuclear activated form of this transcription factor is essential for inducing target genes transcription, its level was assessed by immunofluorescence assay. Le ratio of positive nuclei for NF- $\kappa$ B staining to total nuclei was significantly 3.6 times higher in EVOO than in Control diet (Figure 4A). More precisely, positive stained cell nuclei were usually found in the form of inflammatory foci (boxed area of left panel). By using staining with both anti-CD68 (for macrophage) and anti-p65 (for NF- $\kappa$ B) antibodies (right panel), it appeared that stained cells found in these foci where either macrophages or hepatocytes.

Macrophage tissue content was then assessed by using an anti-CD68 antibody. When compared to CPO or EVOO diet, a significant decrease of

macrophage density was observed with RPO diet. When compared to control diet, only a non significant trend to a higher level of macrophage infiltration was observed with EVOO diet (Figure 3C).

In addition, higher levels of plasma AST and ALT were observed with EVOO diet when compared to other diets (Figure 3A), suggesting that this diet induced a higher level of cytolysis.

## **DISCUSSION**

The present study aimed to elucidate in a same experimental set-up, liver effects of HFD enriched with crude or refined palm oil, comparatively to a one based on the virgin olive oil. To this end, steatosis, oxidative stress, inflammation, mitochondrial activity and lipid metabolism parameters were assessed. This work focuses on edible oils and not on the palm stearin solid fraction, because the field of use of the latter is quite different.

*Obesity was increased with all high fat diets:* Although all high-fat diets led to a significant increase of the final total body weight of animals (when compared to control diet), no significant differences were observed among high-fat regimen. This is in agreement with the study of Portillo *et al.*<sup>34</sup>, whose analysis was done during only 4 weeks of treatment

*Circulating plasma lipid levels were not modified with high fat diets:* TG, total cholesterol or HDL-cholesterol in plasma were not modified by diets. These results are also consistent with a human dietary intervention study comparing effects on plasma lipids of palm olein and extra virgin olive oil in young adults volunteers<sup>35</sup>. In this study, comparison between these two oils yielded no significant differences in their effects on plasma TG, HDL or LDL-cholesterol. However, in other studies using older hospitalized or institutionalized subjects as well as semisynthetic oils, a higher level of total and LDL-cholesterol was found<sup>36-38</sup>. Concerning total cholesterol, the situation appeared different in mice. Indeed, in the study of Arbones-Mainar *et al.*,<sup>39</sup> when comparing olive oil from two origins (respectively rich and poor in polyphenols) with palm oil (whose quality was not specified), an increase in total cholesterol was observed with olive oil diets.

*No clear systemic nor hepatic oxidative stress were observed with high fat diets:* concerning systemic or liver oxidative stress, the only marker to vary significantly was RBC-SOD (level diminished in RPO). The slight reduction (albeit non significant) of plasma 15-F<sub>2t</sub>-isoprotanes level obtained with all HFD was in accordance with results obtained in a previous study<sup>40</sup>. However, the lower 15-F<sub>2t</sub>-isoprotanes level observed with EVOO diet was not accompanied by same trend for TBARS. Overall, these results showed that oxidative stress was not fundamentally altered for all these diets in rats. By contrast, in another study, CPO diet was shown to have protective effects on a selenium deficient human population at risk for oxidative stress<sup>41</sup>. In fact, increases in some oxidative parameters that were observed in some studies dealing with HFD<sup>40, 42</sup>, may just be tempered in our study by the presence of extra TG components contained in both types of oil. As an example, in the study of Rincon-Cervera *et al.*,<sup>43</sup> increases in hepatic or plasmatic TBARS levels, or TBARS level/total GSH level ratio induced by a classic HFD in mice, were practically abolished when HFD was rich in virgin olive oil.

*Glucose tolerance was altered only with palm oil rich diets:* blood parameters related to insulin-resistance were also evaluated. The only parameter to show a significant change was AUC (calculated after IPGTT) which was increased after both CPO and RPO diets. Although blood glucose and insulin changes did not reach statistical significance, it may be observed that levels of insulin and AUC were twice higher with RPO than with control diet. In another study<sup>44</sup> using same rats strain fed 12 weeks an olive oil diet (42% energy (EVOO)/11% energy (control)), a higher level of blood glucose was observed with no change of insulin level. However, in the study of Portillo *et al.*,<sup>34</sup> after a 4-week diet with either palm or olive oil, no significant differences were observed for these two parameters. In the intervention study of Teng *et al.*,<sup>45</sup> no differences in plasma glucose, insulin, and pro-inflammatory markers were found when comparing palm olein and olive oil diets. Overall, these data showed that for now, it remains difficult to establish with certainty which oil displays the less deleterious effect on these blood parameters.

*Hepatic fat accumulation:* concerning hepatic fat accumulation after HFD, a significant increase in TG content in EVOO group was observed when compared to all other groups. However, differences in lipid content when assessed by quantification with Oil Red O staining were not significant. We noticed only a trend between EVOO and control group. Such discrepancy might be a consequence of the greater inherent variability of measurements with histological methods that should necessitate a larger number of animals. Since the mean liver TG weight was only 3.5-6.1% to that of liver, it appeared that the weight that animal had gained after a high fat diet was rather localized in extrahepatic fat, explaining the small variations of liver weight.

In the literature concerning effects of olive oil in animal models, conflicting results have been reported [46](#) [13](#). Indeed, in some studies carried out in rodents, it was shown that an enriched diet with olive oil induced hepatic fat accumulation [34](#), [39](#), [47](#), [48](#). For example, in the study of Portillo *et al.*,[34](#) a small but non significant increase of rat liver TG was observed with olive oil diet, comparatively to palm oil diet, with no variation in total liver cholesterol content. Moreover, a kinetic study showed that, from the 2<sup>nd</sup> week of diet, liver TG level was higher in mice fed olive oil diet comparatively to mice fed corn oil diet, the TG level continuing to increase until 8<sup>th</sup> week with olive oil diet, while decreasing with corn oil diet [47](#). Also, in the study of Arbones-Mainar *et al.*[39](#) cited above, a significant higher level of hepatic fat accumulation was also observed with olive oil[39](#). Conversely, in other studies, olive oil diet have showed a capacity to reverse experimental NAFLD induced in rats[49](#), [50](#), and this still applied to human subjects with NAFLD[51](#). Such discrepancies may be explained by the fact that polyphenols contained in EVOO may act positively only when severe NAFLD is already in place.

In our study, differences between palm and olive oil diets concerned also hepatic parameters linked to lipid metabolism, cytolysis and inflammation (see Figure 3 and 4).

*Hepatic lipid metabolism:* as expected, liver MUFA were clearly and significantly increased with EVOO diet, but also, to a lesser extent, in CPO and RPO. This is in accordance with the C18:1 content of these oils that was

on average 40 % for CPO or RPO, and 60-70 % for EVOO as it can be seen in Supplemental Table 2 and in Koushki or Montano studies [52](#), [53](#). Besides, taking into account the suspected link between insulin resistance and SFA [54](#), levels of saturated fat in liver were analyzed. Concerning major classes of fatty acids, CPO but not RPO diet was found to increase SFA percentage, whereas it was found lower with EVOO diet. If such increase is understandable between palm and olive oil, due to the higher SFA content in palm oil (45,1% for CPO, 42.4% for RPO and 20% for EVOO (Supplemental Table 2)), comparison between CPO and RPO, whose SFA contents are quite close (albeit slightly higher with CPO), appears more surprising. It must be emphasized that only percentages of these different fatty acids moieties were investigated in our study, and not their total content in the liver. It is worthy to note that liver level of palmitic acid was found identical in palm oil and control diets, despite the high palmitic acid content of palm oil. Palmitic acid was often considered as detrimental, however, concerning effects on CVD, conflicting results have been reported [55](#) that make difficult the elaboration of a clear concept.

Recent evidences suggest that close links may exist between NAFLD and mitochondrial dysfunction<sup>[56](#)</sup> and also between OXPHOS and fatty acid beta-oxidation<sup>[57](#)</sup>. Lower activity of mitochondrial complexes (significant with CII) with EVOO HFD diet, combined to a low level of *Pgc-1 $\alpha$*  gene expression (factor supposed to enhance fatty acid beta-oxidation) could lead to a lower efficiency of fatty acid beta-oxidation that may explain TG accumulation in liver.

*Ppar $\gamma$* , a cofactor involved in the increase of fat accumulation, had a high and identical mRNA level with both RPO and EVOO diets, while TG levels for these two diets were different. One would assume that the higher level of *Fabp1* gene expression observed with RPO diet may favor beta-oxidation of fatty acids that would limit fat accumulation<sup>[58](#)</sup>. Conversely, alterations of mitochondrial function that were apparent with the EVOO diet through the reduction of mitochondrial complexes activity may this time lead to a lower beta-oxidation level. Likewise, the lower *Ppar $\gamma$*  gene expression level observed with CPO than with RPO diet, while steatosis parameters were found identical, may be

explained by a lower *Fabp1* gene expression level and a lower beta-oxidation efficiency (due to a lower *Ppara* expression level with CPO diet).

*Hepatic cytolysis:* in our study, blood levels of ALT and AST followed similar changes than that observed with liver TG and CE, indicating a possible harmful effect of HFD enriched with EVOO on liver. Interestingly, in the case of palm oil diet, TG and CE contents as well as AST and ALT activities remained almost at the same level as that of the control diet. A recent study of Pirozzi *et al.*<sup>59</sup> has also shown that in rats fed a HFD with olive oil, both an increase of blood transaminases and inflammation markers were observed, such increase being prevented by the addition of an extra dose of the polyphenolic compound hydroxytyrosol to the diet.

*Inflammation:* decrease of *Nf-κb* or increase of *Ikb-α* expression level in liver with CPO and RPO respectively, might reflect a lesser inflammation process associated with the use of these oils. Importantly, when evaluating NF-κB factor contained in nuclei, which represent the efficient form of this factor, the level of this active form was very significantly raised with EVOO diet suggesting that the higher level of hepatic cytotoxicity observed with this diet is accompanied with an inflammation process that occurs mainly in liver macrophages or hepatocytes localized in foci. Macrophage tissue level was significantly lower with RPO than with EVOO. However, since CD68 staining reveals both resident Kupffer as well as infiltrating macrophagic cells, this may explain why the relative increase of macrophages with EVOO diet remained modest and non significant compared to control.

It must be emphasized that diets used in this study were chosen obesogenic in order to highlight adverse effects associated with excess of fat consumption. However, a normal and long term use of olive oil, as it is the case for Mediterranean diet, has been demonstrated to have beneficial effects on both cardiovascular system but also on NAFLD<sup>51, 60</sup>.

*Conclusion:* altogether, our results showed that all HFD in this study have various deleterious effects, those with palm oil being rather related to glucose handling and liver SFA content, whereas those with olive oil being rather

related to hepatic inflammation and cytolysis. However, this study did not generate clear-cut recommendations concerning the choice between CPO and RPO in limiting adverse liver effects. Further studies are needed to analyze long-term effects of these oils consumption in a non-obesogenic diet in human.

### **ABBREVIATION USED.**

ACC, acetyl-CoA carboxylase; ALT, alanine aminotransferase; AMPK, AMP-activated protein kinase; AST, aspartate aminotransferase; BHT, butylated hydroxytoluene; CI or II or III, respiratory chain complex-I or II or III; COX, cytochrome c oxidase; CE, cholesterol ester; CPO, crude palm oil; CPT1A, carnithine palmitoyltransferase 1A; CS, citrate synthase; CVD, cardiovascular diseases; EVOO, extra virgin olive oil; FA, fatty acid, *Fabp1*, fatty acid binding protein; FAS, fatty acid synthase; *Fat/Cd36*, fatty acid transporter/complement 36; *Gclc*, glutamate-cysteine ligase catalytic subunit; GPx, glutathione peroxidase; GSH, glutathione; GssG, oxidized glutathione; HDL-C, HDL cholesterol; HFD, high-fat diet; HO-1, heme oxygenase 1; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance; IL, interleukin; IPGTT, intraperitoneal glucose tolerance test; *Ikb- $\alpha$* , inhibitor kappa B alpha; MUFA, monounsaturated fatty acids; *Nf- $\kappa$ b*, nuclear factor "kappa-light-chain-enhancer" of activated B-cells; *Nqo1*, NADH quinone oxidoreductase 1; *Nrf1*, nuclear respiratory factor 1; *Nrf2*, nuclear factor E2-related factor 2; *Pgc-1 $\alpha$* , peroxisome proliferator activator receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ ; *Ppara $\alpha$* , peroxisome proliferator activated receptor alpha; *Ppar $\gamma$* , peroxisome proliferator activated receptor gamma; PUFA, polyunsaturated fatty acids; RBC, red blood cell; ROS, reactive oxygen species; RPO, refined palm oil; *Rplp0*, 60S acidic ribosomal protein P0; SFA, saturated fatty acids; SOD, superoxide dismutase; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances; *Tfam*, mitochondrial transcription factor A; TG, triglycerides; UI, unsaturation index.

### **Acknowledgments**

We gratefully acknowledge Dr C Notarnicola, Dr V Scheuermann. Designed research (JPC, EB, CFC, CC, AM); wrote the paper (BE, CFC); conducted research (YFD, BB, GF, CL, AMD, EP, TS, SG, KL, NG, BJ),

analyzed data or performed statistical analysis (EB, CFC). All authors read and approved the final manuscript.

## **AUTHOR INFORMATION**

### **Corresponding Author**

\*E-mail: [eric.badia@umontpellier.fr](mailto:eric.badia@umontpellier.fr)

### **Funding Sources**

We gratefully acknowledge the SANIA Company, which made a financial contribution to this work.

## **TABLES**

**Table 1:** Diet composition (g/kg) on the basis of the AIN-93M diet formulation.

**Table 2:** Rat characteristics and metabolic plasma analysis.

**Table 3:** Liver mitochondrial activity and oxidative stress parameters.

**Table 4:** Fatty acid composition of liver lipid extracts.

**Table 5:** Summary of positive and negative impacts of diets.

**Supplemental Table 1:** Primer sequences used for real-time RT-PCR.

**Supplemental Table 2 :** Fatty acid composition of oils used in diets (%).

## **FIGURES LEGENDS**

**Figure 1.** Body weight evolution during the 12 weeks of diet experiment. Results are mean  $\pm$ SEM (n=8).

**Figure 2.** Liver lipid transport and metabolism: WISTAR rats were fed 12 weeks of either control or high-fat (CPO or RPO or EVOO) diet. After diet, liver mRNA or proteins were extracted and analyzed respectively by qRT-PCR or Western blotting as described in Materials and Methods. **A.** Level of transport (CPT1A, *Fat/Cd36*, *Fabp1*) and synthesis (ACC, pACC, FAS,) of fatty acids

were analyzed. **B.** Level of lipid metabolism modulators (*Ppara* and *Pparγ*, AMPK, pAMPK) were assessed and control diet was set at 100%. Data not sharing the same letter are significantly different, and results are mean ±SEM (n=7-8)

**Figure 3.** Liver steatosis. **A.** Methods for liver TG and CE quantification (n=7-8) and for lipid quantification of histological sections stained with Oil Red O (n=10-12/rat) were described in Materials and Methods. **B.** Plasma ALT and AST levels were assessed as described in Methods Results were expressed as percent of control diet. Data not sharing the same letter are significantly different and results are mean ±SEM.

**Figure 4.** Liver inflammation. **A.** For nuclear NF-κB assessment, histological sections were immunostained with p65 primary antibody and stained with DAPI (left panel), or immunostained with both p65 and CD68 antibodies and stained with DAPI (right panel). Boxed areas indicate inflammatory foci **B.** For macrophage determination, histological sections were immunostained with CD 68 primary antibody

Quantification of either, positive NF-κB stained nuclei (A: 5 fields/rat), or macrophage tissue content (B: 10-20 fields/rat) were performed as described in the Materials and Methods. Control diet was set at 100%. Data not sharing the same letter are significantly different and results are mean ±SEM.

## REFERENCES

1. Mba, O. I.; Dumont, M.-J.; Ngadi, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *Food Bioscience* **2015**, 10, 26-41.
2. Ahsan, H.; Ahad, A.; Iqbal, J.; Siddiqui, W. A. Pharmacological potential of tocotrienols: a review. *Nutrition & metabolism* **2014**, 11, 52.
3. Ferguson, J. J.; Stojanovski, E.; MacDonald-Wicks, L.; Garg, M. L. Fat type in phytosterol products influence their cholesterol-lowering potential: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Progress in lipid research* **2016**, 64, 16-29.

4. Odia, O. J.; Ofori, S.; Maduka, O. Palm oil and the heart: A review. *World J Cardiol* **2015**, 7, 144-9.
5. Monde, A.; Carbonneau, M. A.; Michel, F.; Lauret, C.; Diabate, S.; Konan, E.; Sess, D.; Cristol, J. P. Potential health implication of in vitro human low-density lipoprotein-vitamin E oxidation modulation by polyphenols derived from Cote d'Ivoire's oil palm species. *Journal of agricultural and food chemistry* **2011**, 59, 9166-71.
6. Bellentani, S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* **2017**, 37 Suppl 1, 81-84.
7. Asrih, M.; Jornayvaz, F. R. Diets and nonalcoholic fatty liver disease: the good and the bad. *Clin Nutr* **2014**, 33, 186-90.
8. de Wit, N. J.; Afman, L. A.; Mensink, M.; Muller, M. Phenotyping the effect of diet on non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology* **2012**, 57, 1370-3.
9. Martinez-Gonzalez, M. A.; Martin-Calvo, N. Mediterranean diet and life expectancy; beyond olive oil, fruits, and vegetables. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **2016**, 19, 401-407.
10. Velasco, N.; Contreras, A.; Grassi, B. The Mediterranean diet, hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **2014**, 17, 453-7.
11. Martinez-Gonzalez, M. A.; Dominguez, L. J.; Delgado-Rodriguez, M. Olive oil consumption and risk of CHD and/or stroke: a meta-analysis of case-control, cohort and intervention studies. *The British journal of nutrition* **2014**, 112, 248-59.
12. Assy, N.; Nassar, F.; Nasser, G.; Grosovski, M. Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology* **2009**, 15, 1809-15.

13. Priore, P.; Cavallo, A.; Gnoni, A.; Damiano, F.; Gnoni, G. V.; Siculella, L. Modulation of hepatic lipid metabolism by olive oil and its phenols in nonalcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life* **2015**, 67, 9-17.
14. Metz, L.; Vermaelen, M.; Lambert, K.; Broca, C.; Sirvent, P.; Raynaud, E.; Mercier, J. Endurance training increases lactate transport in male Zucker fa/fa rats. *Biochemical and biophysical research communications* **2005**, 331, 1338-45.
15. Elferchichi, M.; Mercier, J.; Bourret, A.; Gross, R.; Lajoix, A. D.; Belguith, H.; Abdelmelek, H.; Sakly, M.; Lambert, K. Is static magnetic field exposure a new model of metabolic alteration? Comparison with Zucker rats. *International journal of radiation biology* **2011**, 87, 483-90.
16. Aoun, M.; Feillet-Coudray, C.; Fouret, G.; Chabi, B.; Crouzier, D.; Ferreri, C.; Chatgililoglu, C.; Wrutniak-Cabello, C.; Cristol, J. P.; Carbonneau, M. A.; Coudray, C. Rat liver mitochondrial membrane characteristics and mitochondrial functions are more profoundly altered by dietary lipid quantity than by dietary lipid quality: effect of different nutritional lipid patterns. *The British journal of nutrition* **2012**, 107, 647-59.
17. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* **1976**, 72, 248-54.
18. Matthews, D. R.; Hosker, J. P.; Rudenski, A. S.; Naylor, B. A.; Treacher, D. F.; Turner, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **1985**, 28, 412-9.
19. Coudray, C.; Fouret, G.; Lambert, K.; Ferreri, C.; Rieusset, J.; Blachnio-Zabielska, A.; Lecomte, J.; Ebabe Elle, R.; Badia, E.; Murphy, M. P.; Feillet-Coudray, C. A mitochondrial-targeted ubiquinone modulates muscle lipid profile and improves mitochondrial respiration in obesogenic diet-fed rats. *The British journal of nutrition* **2016**, 115, 1155-66.

20. Sunderman, F. W., Jr.; Marzouk, A.; Hopfer, S. M.; Zaharia, O.; Reid, M. C. Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Annals of clinical and laboratory science* **1985**, 15, 229-36.
21. Faure, P.; Lafond, J. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: Favier A, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J, editors. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems. Basel (Switzerland): Birkhauser Verlag* **1995**, 237-48.
22. Griffith, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical biochemistry* **1980**, 106, 207-12.
23. Beers, R. F., Jr.; Sizer, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *The Journal of biological chemistry* **1952**, 195, 133-40.
24. Flohe, L.; Gunzler, W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in enzymology* **1984**, 105, 114-21.
25. Marklund, S. Spectrophotometric study of spontaneous disproportionation of superoxide anion radical and sensitive direct assay for superoxide dismutase. *The Journal of biological chemistry* **1976**, 251, 7504-7.
26. Janssen, A. J.; Trijbels, F. J.; Sengers, R. C.; Smeitink, J. A.; van den Heuvel, L. P.; Wintjes, L. T.; Stoltenborg-Hogenkamp, B. J.; Rodenburg, R. J. Spectrophotometric assay for complex I of the respiratory chain in tissue samples and cultured fibroblasts. *Clinical chemistry* **2007**, 53, 729-34.
27. Rustin, P.; Chretien, D.; Bourgeron, T.; Gerard, B.; Rotig, A.; Saudubray, J. M.; Munnich, A. Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* **1994**, 228, 35-51.
28. Wharton, D.; Tzagoloff, A. Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Methods in enzymology* **1967**, 10, 245-50.
29. Srere, P. Citrate synthase. *Methods in enzymology* **1969**, 13, 3-11.

30. Baracca, A.; Sgarbi, G.; Solaini, G.; Lenaz, G. Rhodamine 123 as a probe of mitochondrial membrane potential: evaluation of proton flux through F(0) during ATP synthesis. *Biochimica et biophysica acta* **2003**, 1606, 137-46.
31. Barja, G. The quantitative measurement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in isolated mitochondria. *Journal of bioenergetics and biomembranes* **2002**, 34, 227-33.
32. Folch, J.; Lees, M.; Sloane Stanley, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry* **1957**, 226, 497-509.
33. Warensjo, E.; Ohrvall, M.; Vessby, B. Fatty acid composition and estimated desaturase activities are associated with obesity and lifestyle variables in men and women. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD* **2006**, 16, 128-36.
34. Portillo, M. P.; Chavarri, M.; Duran, D.; Rodriguez, V. M.; Macarulla, M. T. Differential effects of diets that provide different lipid sources on hepatic lipogenic activities in rats under ad libitum or restricted feeding. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* **2001**, 17, 467-73.
35. Choudhury, N.; Tan, L.; Truswell, A. S. Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. *The American journal of clinical nutrition* **1995**, 61, 1043-51.
36. Nestel, P.; Clifton, P.; Noakes, M. Effects of increasing dietary palmitoleic acid compared with palmitic and oleic acids on plasma lipids of hypercholesterolemic men. *Journal of lipid research* **1994**, 35, 656-62.
37. McGandy, R. B.; Hegsted, D. M.; Myers, M. L. Use of semisynthetic fats in determining effects of specific dietary fatty acids on serum lipids in man. *The American journal of clinical nutrition* **1970**, 23, 1288-98.
38. Denke, M. A.; Grundy, S. M. Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins. *The American journal of clinical nutrition* **1992**, 56, 895-8.
39. Arbones-Mainar, J. M.; Ross, K.; Rucklidge, G. J.; Reid, M.; Duncan, G.; Arthur, J. R.; Horgan, G. W.; Navarro, M. A.; Carnicer, R.; Arnal, C.; Osada,

J.; de Roos, B. Extra virgin olive oils increase hepatic fat accumulation and hepatic antioxidant protein levels in APOE<sup>-/-</sup> mice. *Journal of proteome research* **2007**, 6, 4041-54.

40. Feillet-Coudray, C.; Fouret, G.; Ebabe Elle, R.; Rieusset, J.; Bonafos, B.; Chabi, B.; Crouzier, D.; Zarkovic, K.; Zarkovic, N.; Ramos, J.; Badia, E.; Murphy, M. P.; Cristol, J. P.; Coudray, C. The mitochondrial-targeted antioxidant MitoQ ameliorates metabolic syndrome features in obesogenic diet-fed rats better than Apocynin or Allopurinol. *Free radical research* **2014**, 48, 1232-46.

41. Tiahou, G.; Maire, B.; Dupuy, A.; Delage, M.; Vernet, M. H.; Mathieu-Daude, J. C.; Michel, F.; Sess, E. D.; Cristol, J. P. Lack of oxidative stress in a selenium deficient area in Ivory Coast--potential nutritional antioxidant role of crude palm oil. *European journal of nutrition* **2004**, 43, 367-74.

42. Kesh, S. B.; Sarkar, D.; Manna, K. High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review. *Asian journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **2016**, 9, 47-52.

43. Rincon-Cervera, M. A.; Valenzuela, R.; Hernandez-Rodas, M. C.; Marambio, M.; Espinosa, A.; Mayer, S.; Romero, N.; Barrera, M. S. C.; Valenzuela, A.; Videla, L. A. Supplementation with antioxidant-rich extra virgin olive oil prevents hepatic oxidative stress and reduction of desaturation capacity in mice fed a high-fat diet: Effects on fatty acid composition in liver and extrahepatic tissues. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* **2016**, 32, 1254-67.

44. Buettner, R.; Parhofer, K. G.; Woenckhaus, M.; Wrede, C. E.; Kunz-Schughart, L. A.; Scholmerich, J.; Bollheimer, L. C. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of molecular endocrinology* **2006**, 36, 485-501.

45. Teng, K. T.; Nagapan, G.; Cheng, H. M.; Nesaretnam, K. Palm olein and olive oil cause a higher increase in postprandial lipemia compared with lard but had no effect on plasma glucose, insulin and adipocytokines. *Lipids* **2011**, 46, 381-8.

46. Ferramosca, A.; Zara, V. Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World journal of gastroenterology* **2014**, 20, 1746-55.
47. Ferramosca, A.; Savy, V.; Zara, V. Olive oil increases the hepatic triacylglycerol content in mice by a distinct influence on the synthesis and oxidation of fatty acids. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **2008**, 72, 62-9.
48. Takeuchi, H.; Nakamoto, T.; Mori, Y.; Kawakami, M.; Mabuchi, H.; Ohishi, Y.; Ichikawa, N.; Koike, A.; Masuda, K. Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **2001**, 65, 1748-54.
49. Hussein, O.; Grosovski, M.; Lasri, E.; Svalb, S.; Ravid, U.; Assy, N. Monounsaturated fat decreases hepatic lipid content in non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World journal of gastroenterology* **2007**, 13, 361-8.
50. Jurado-Ruiz, E.; Varela, L. M.; Luque, A.; Berna, G.; Cahuana, G.; Martinez-Force, E.; Gallego-Duran, R.; Soria, B.; de Roos, B.; Romero Gomez, M.; Martin, F. An extra virgin olive oil rich diet intervention ameliorates the nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fat "Western-type" diet in mice. *Molecular nutrition & food research* **2017**, 61.
51. Ryan, M. C.; Itsiopoulos, C.; Thodis, T.; Ward, G.; Trost, N.; Hofferberth, S.; O'Dea, K.; Desmond, P. V.; Johnson, N. A.; Wilson, A. M. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology* **2013**, 59, 138-43.
52. Koushki, M.; Nahidi, M.; Cheraghali, F. Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil. *Journal of Paramedical Sciences* **2015**, 6, 117-134.
53. Montano, A.; Hernandez, M.; Garrido, I.; Llerena, J. L.; Espinosa, F. Fatty Acid and Phenolic Compound Concentrations in Eight Different

Monovarietal Virgin Olive Oils from Extremadura and the Relationship with Oxidative Stability. *International journal of molecular sciences* **2016**, 17.

54. Samuel, V. T.; Shulman, G. I. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* **2012**, 148, 852-71.

55. Mancini, A.; Imperlini, E.; Nigro, E.; Montagnese, C.; Daniele, A.; Orru, S.; Buono, P. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules* **2015**, 20, 17339-61.

56. Nassir, F.; Ibdah, J. A. Role of mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *International journal of molecular sciences* **2014**, 15, 8713-42.

57. Nsiah-Sefaa, A.; McKenzie, M. Combined defects in oxidative phosphorylation and fatty acid beta-oxidation in mitochondrial disease. *Bioscience reports* **2016**, 36.

58. Wang, G.; Bonkovsky, H. L.; de Lemos, A.; Burczynski, F. J. Recent insights into the biological functions of liver fatty acid binding protein 1. *Journal of lipid research* **2015**, 56, 2238-47.

59. Pirozzi, C.; Lama, A.; Simeoli, R.; Paciello, O.; Pagano, T. B.; Mollica, M. P.; Di Guida, F.; Russo, R.; Magliocca, S.; Canani, R. B.; Raso, G. M.; Calignano, A.; Meli, R. Hydroxytyrosol prevents metabolic impairment reducing hepatic inflammation and restoring duodenal integrity in a rat model of NAFLD. *The Journal of nutritional biochemistry* **2016**, 30, 108-15.

60. Sofi, F.; Casini, A. Mediterranean diet and non-alcoholic fatty liver disease: new therapeutic option around the corner? *World journal of gastroenterology* **2014**, 20, 7339-46.

61. Hudgins, L. C.; Hellerstein, M.; Seidman, C.; Neese, R.; Diakun, J.; Hirsch, J. Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *The Journal of clinical investigation* **1996**, 97, 2081-91.

**Table 1: Diet composition (g/kg) on the basis of the AIN-93M diet formulation.**

<b>Ingredients</b>	<b>Control</b>	<b>CPO</b>	<b>RPO</b>	<b>EVOO</b>
Casein	165	200	200	200
Cornstarch	443	234	234	234
Maltodextrine	144	80	80	80
Sucrose	100	53	53	53
Soybean oil	50	25	25	25
Crude palm oil	0	300	0	0
Refined palm oil	0	0	300	0
Extra virgin olive oil	0	0	0	300
Cellulose	50	50	50	50
Mineral mix (AIN-93M)	35	42	42	42
Vitamin mix (AIN-93M)	10	12	12	12
L-Cystine	2	2.4	2.4	2.4
Choline chloride	1.5	1.8	1.8	1.8
<b>TOTAL</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

CPO, crude palm oil; RPO, refined palm oil; EVOO, extra virgin olive oil.

**Table 2: Rat characteristics and metabolic plasma analysis**

	<b>Control</b>	<b>CPO</b>	<b>RPO</b>	<b>EVOO</b>	<b>p values</b>
Initial body weight (g)	209 ± 12	203 ± 4	204 ± 5	207 ± 5	NS
Final body weight (g)	528 ± 27 <sup>a</sup>	609 ± 40 <sup>b</sup>	612 ± 52 <sup>b</sup>	588 ± 49 <sup>b</sup>	< 0.01
Liver weight (g)	11.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	12.4 ± 1.2 <sup>ab</sup>	13.8 ± 1.6 <sup>b</sup>	13.0 ± 1.5 <sup>b</sup>	< 0.01
Total adipose tissue (g)	28.6 ± 8.2 <sup>a</sup>	44.7 ± 9.1 <sup>b</sup>	46.4 ± 8.3 <sup>b</sup>	42.7 ± 10.5 <sup>b</sup>	< 0.01
IPGTT (AUC g/L/120mn)	186 ± 23 <sup>a</sup>	233 ± 43 <sup>b</sup>	225 ± 33 <sup>b</sup>	212 ± 22 <sup>ab</sup>	< 0.05
Glucose (mmol/L)	7.73 ± 0.67 <sup>a</sup>	8.61 ± 0.92 <sup>b</sup>	8.73 ± 0.55 <sup>b</sup>	8.35 ± 0.98 <sup>ab</sup>	0.09
Insulin (µg/L)	3.05 ± 2.81	4.34 ± 2.59	5.90 ± 3.12	3.37 ± 2.85	NS
HOMA-IR	26.4 ± 27.5	39.9 ± 24.6	55.4 ± 30.2	31.6 ± 29.1	NS
Cholesterol (mmol/L)	2.00 ± 0.41	1.75 ± 0.43	1.99 ± 0.36	1.72 ± 0.28	NS
HDL-C (mmol/L)	1.49 ± 0.30	1.34 ± 0.24	1.56 ± 0.31	1.33 ± 0.20	NS
TG (mmol/L)	1.18 ± 0.55	0.99 ± 0.30	1.33 ± 0.55	1.01 ± 0.31	NS
CT/HDL-C	1.35 ± 0.05	1.30 ± 0.06	1.29 ± 0.03	1.29 ± 0.04	NS
GPx (U/mL)	14.5 ± 3.3	16.1 ± 1.7	15.9 ± 4.3	13.9 ± 1.4	NS
RBC SOD (U/mL)	324 ± 15 <sup>a</sup>	315 ± 25 <sup>ab</sup>	296 ± 23 <sup>b</sup>	327 ± 19 <sup>a</sup>	< 0.05
IL-6 (pg/mL)	12.7 ± 5.8	13.1 ± 7.6	11.0 ± 3.9	11.6 ± 9.2	NS
Thiols (µmol/mL)	0.112 ± 0.052	0.126 ± 0.037	0.124 ± 0.049	0.111 ± 0.044	NS
TBARS (nmol/mL)	5.12 ± 0.86	5.13 ± 0.60	5.26 ± 1.04	4.79 ± 0.88	NS
15-F <sub>2t</sub> -IsoP (arb.unit)	0.053 ± 0.16	0.049 ± 0.018	0.044 ± 0.006	0.037 ± 0.006	0.09
NOX (RLU/mg)	17355 ± 9703	20988 ± 11373	19975 ± 9695	28460 ± 9388	NS

Values are mean ± SD. One-way analysis of variance (ANOVA) was used. Statistical significance was set at  $p < 0.05$  (when  $p$  value is close to 0.05, it is indicated). Data not sharing the same letter are significantly different. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; CPO, crude palm oil; EVOO, extra virgin olive oil; GPx, glutathione peroxidase; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance; HDL-C, HDL cholesterol; IPGTT, intraperitoneal glucose tolerance test; RBC, red blood cell; RPO, refined palm oil; SOD, superoxide dismutase; IL, interleukin; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances; TG, triglycerides.

HOMA-IR was calculated as described in the Materials and Methods.

**Table 3: Liver mitochondrial activity and oxidative stress parameters**

	Control	CPO	RPO	EVOO	p values
<b>Mitochondrial activity</b>					
CS (mU/mg protein)	97.0 ± 17.3	103 ± 20	101 ± 18	107 ± 14	NS
CI/CS	1.56 ± 0.72	1.31 ± 0.46	1.40 ± 0.36	1.41 ± 0.38	NS
CII/CS	1.85 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.80 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.20 <sup>b</sup>	< 0.05
(CII+III)/CS	0.078 ± 0.016	0.077 ± 0.013	0.094 ± 0.027	0.065 ± 0.018	0.06
COX/CS	0.796 ± 0.244	0.767 ± 0.254	0.846 ± 0.342	0.819 ± 0.273	NS
<b>Mitochondriogenesis</b>					
<i>Pgc-1α</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 31.8 <sup>a</sup>	57.4 ± 20.8 <sup>bc</sup>	72.6 ± 37.0 <sup>ac</sup>	65.0 ± 22.1 <sup>bc</sup>	0.03
<i>Nrf1</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 18.4	84.2 ± 13.8	100.1 ± 18.9	104.9 ± 28.3	NS
<i>Tfam</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 38.5	73.1 ± 18.6	102.6 ± 27.3	90.4 ± 41.1	NS
<b>Oxidation products</b>					
TBARS (nmol/g wet weight)	98.8 ± 19.9	104.6 ± 19	90.1 ± 18.4	82.6 ± 11.9	0.09
Thiols (nmol/mg proteins)	110 ± 10	121 ± 8	123 ± 9	117 ± 12	0.07
<b>Antioxidant systems</b>					
Total GSH (mmol/g wet weight)	1.61 ± 0.19	1.68 ± 0.92	1.77 ± 0.22	1.55 ± 0.24	NS
GSH/GSSG	4.91 ± 0.34	4.90 ± 0.28	5.03 ± 0.18	4.96 ± 0.46	NS
Catalase (U/mg proteins)	725 ± 57	828 ± 79	791 ± 125	787 ± 53	NS
GPx (U/mg proteins)	6.69 ± 0.51	6.92 ± 1.37	6.96 ± 0.75	6.52 ± 0.72	NS
SOD (U/mg proteins)	45.7 ± 4.3	48.9 ± 7.4	43.9 ± 5.0	43.9 ± 5.0	NS
<i>Nrf2</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 24.4 <sup>a</sup>	99.4 ± 28.9 <sup>a</sup>	109.3 ± 20.7 <sup>ab</sup>	135.3 ± 39.2 <sup>b</sup>	0.07
<b>Inflammation</b>					
<i>Nf-κb</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 19.8 <sup>a</sup>	78.6 ± 11.9 <sup>b</sup>	95.6 ± 10.2 <sup>a</sup>	106.7 ± 17.2 <sup>a</sup>	0.008
<i>Iκb-α</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 35.8 <sup>ab</sup>	85.0 ± 19.7 <sup>b</sup>	178.7 ± 67.2 <sup>c</sup>	138.8 ± 49.4 <sup>ac</sup>	0.0021
<i>Il1β</i> (mRNA,% Control)	100.0 ± 34.6	79.0 ± 17.4	90.7 ± 14.0	100.1 ± 30.2	NS

Values are mean ± SD. One-way analysis of variance (ANOVA) was used. Statistical significance was set at p < 0.05 (when p value is close to 0.05, it is indicated). Data not sharing the same letter are significantly different. CI or II or III, respiratory chain complex I or II or III; COX, cytochrome c oxidase; CS, citrate synthase; GPx, glutathione peroxidase; GSH, glutathione; GssG, oxidized glutathione; Iκb-α, inhibitor kappa B alpha; Nf-κb, nuclear factor "kappa-light-chain-enhancer" of activated B-cells; *Pgc-1α*, peroxisome

proliferator activator receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ ; SOD, superoxide dismutase; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances.

**Table 4: Fatty acid composition of liver lipid extract**

	Control	CPO	RPO	EVOO	p values
Major SFA	37.5 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	40.1 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>	38.8 $\pm$ 2.8 <sup>ab</sup>	35.5 $\pm$ 2.3 <sup>c</sup>	< 0.001
16:00	26.0 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	26.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	26.1 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	21.3 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	< 0.001
18:00	10.1 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	12.0 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	11.5 $\pm$ 3.4 <sup>a</sup>	5.88 $\pm$ 1.62 <sup>b</sup>	< 0.001
Major MUFA	24.3 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	29.9 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	30.7 $\pm$ 4.4 <sup>b</sup>	45.3 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	< 0.001
16:1 n-7	3.97 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>	0.991 $\pm$ 0.389 <sup>b</sup>	1.01 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>	1.14 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	< 0.001
18:1 n-9	16.4 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	26.4 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	27.0 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup>	40.2 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	< 0.001
18:1 n-7	3.11 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	1.62 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	1.60 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	2.64 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	< 0.001
Major PUFA	38.3 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>	30.0 $\pm$ 2.2 <sup>b</sup>	30.5 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	26.7 $\pm$ 1.2 <sup>c</sup>	< 0.001
18:2 n-6	19.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	11.6 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	11.4 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	15.8 $\pm$ 2.3 <sup>c</sup>	< 0.001
18:3 n-6	0.492 $\pm$ 0.118 <sup>a</sup>	0.248 $\pm$ 0.040 <sup>b</sup>	0.236 $\pm$ 0.036 <sup>b</sup>	0.310 $\pm$ 0.071 <sup>b</sup>	< 0.001
18:3 n-3	0.994 $\pm$ 0.161 <sup>a</sup>	0.185 $\pm$ 0.073 <sup>b</sup>	0.197 $\pm$ 0.085 <sup>b</sup>	0.361 $\pm$ 0.080 <sup>c</sup>	< 0.001
20:3 n-6	0.205 $\pm$ 0.039 <sup>a</sup>	0.273 $\pm$ 0.106 <sup>ab</sup>	0.321 $\pm$ 0.081 <sup>b</sup>	0.253 $\pm$ 0.071 <sup>ab</sup>	0.06
20:4 n-6	12.1 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>	13.5 $\pm$ 2.7 <sup>a</sup>	13.5 $\pm$ 3.4 <sup>a</sup>	7.42 $\pm$ 1.78 <sup>b</sup>	< 0.001
22:6 n-3	3.31 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	2.52 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	2.61 $\pm$ 0.87 <sup>b</sup>	1.52 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>	< 0.001
n-6/n-3	6.63 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	9.04 $\pm$ 1.90 <sup>b</sup>	8.82 $\pm$ 1.86 <sup>b</sup>	11.3 $\pm$ 1.7 <sup>c</sup>	< 0.001
UI #	143 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	132 $\pm$ 8 <sup>b</sup>	135 $\pm$ 9 <sup>ab</sup>	123 $\pm$ 3 <sup>c</sup>	< 0.001
$\Delta$ 9-desaturase index (16:1 n-7/16:0)	0.152 $\pm$ 0.024 <sup>a</sup>	0.037 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup>	0.039 $\pm$ 0.018 <sup>b</sup>	0.054 $\pm$ 0.018 <sup>b</sup>	< 0.001
$\Delta$ 6-desaturase index (18:3 n-6/18:2 n-6)	0.025 $\pm$ 0.006	0.022 $\pm$ 0.004	0.021 $\pm$ 0.006	0.020 $\pm$ 0.004	NS
$\Delta$ 5-desaturase index (20:4 n-6/20:3 n-6)	59.9 $\pm$ 7.7 <sup>a</sup>	54.3 $\pm$ 19.9 <sup>ab</sup>	44.1 $\pm$ 15.0 <sup>bc</sup>	30.4 $\pm$ 7.7 <sup>c</sup>	<0.01
<i>De novo</i> lipogenesis index	1.33 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	2.42 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	2.38 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	1.38 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	< 0.001

Major fatty acids are represented and results are expressed as percentage of fatty acids.

Values are mean  $\pm$  SD. One-way analysis of variance (ANOVA) was used. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . (when p value is close to 0.05, it is indicated). Data not sharing the same letter are significantly different. MUFA, monounsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

# UI: unsaturation index = (%monoenoic\*1) + (%dienoic\*2) + (%trienoic\*3) + (%tetraenoic\*4) + (%pentaenoic\*5) + (%hexaenoic\*6).

Hepatic *de novo* lipogenesis was determined from 16:0/18:2n-6 ratio [61](#).

**Table 5: Summary of significant impacts of diets.**

CPO	RPO	EVOO
<b>FINAL WEIGHT</b>		
↑ total body	↑ total body	↑ total body
↑ total adipose tissue	↑ total adipose tissue	↑ total adipose tissue
<b>BLOOD</b>		
↑ AUC(IPGTT)	↑ AUC(IPGTT)	
	↓ RBC-SOD	
		↑↑ ALT
		↑↑ AST
<b>LIVER</b>		
	↑ liver weight	↑ liver weight
↓ <i>Nf-κb</i> -mRNA		↑↑ NF-κB-in nuclei
	↑ <i>Iκb-α</i> -mRNA	
↓↓ <i>Pgc-1</i> -mRNA		↓↓ <i>Pgc-1α</i> -mRNA
		↓ CII/CS
↑ % SFA		↓ % SFA

Indicated changes correspond to a comparison with the control diet. Symbols ↑ = increase; ↓ = decrease, number of arrows is in relation with the importance of change. ALT; alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; AUC, area under curve; CII, respiratory chain complex II; CE, cholesterol ester; CPO, crude palm oil; EVOO, extra virgin olive oil; *Fabp1*, fatty acid binding protein; *Iκb-α*, inhibitor kappa B alpha; MUFA, monounsaturated fatty acids; *Nf-κb*, nuclear factor "kappa-light-chain-enhancer" of activated B-cells; *Pgc-1α*, peroxisome proliferator activator

receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ ; RBC, red blood cell; RPO, refined palm oil; SFA, saturated fatty acids; SOD, superoxide dismutase; TG, triglycerides.

**Supplementary table 1: Primer sequences used for real-time RT-PCR**

<b>gene</b>	<b>forward</b>	<b>reverse</b>
<b><i>Fabp1</i></b>	<i>CTTCTCCGGCAAGTACCAAG</i>	<i>TCCCTTTCTGGATGAGGTC</i>
<b><i>Fat/ Cd36</i></b>	<i>TTGTTCTTCCAGCCAACGCC</i>	<i>CCAGTTATGGGTTCCACATCCAAG</i>
<b><i>Gclc</i></b>	<i>CCTCCTCCTCCAAACTCAGATA</i>	<i>CCACAAATACCACATAGGCAGA</i>
<b><i>Ho-1</i></b>	<i>GCCCTGGAAGAGGAGATAGAG</i>	<i>TAGTGCTGTGTGGCTGGTGT</i>
<b><i>Il1<math>\beta</math></i></b>	<i>ACAAGGAGAGACAAGCAACGAC</i>	<i>TCTTCTTGGGTATTGTTTGGG</i>
<b><i>Ikb-<math>\alpha</math></i></b>	<i>CAGCAGACTCCACTCCACTT</i>	<i>GAGAGGGGTATTTCCCTC GAA</i>
<b><i>Nqo1</i></b>	<i>CCAATCCTCCACCCACTTGT</i>	<i>GTCCCTCAGCCATTGTTTGGAG</i>
<b><i>Nf-kb</i></b>	<i>GTGCAGAAAAGAAGACATTGAGGTG</i>	<i>AGGCTAGGGTCAGCGTATGG</i>
<b><i>Nrf1</i></b>	<i>TTATTCTGCTGTGGCTGATGG</i>	<i>CCTCTGATGCTTGCGTCGTCT</i>
<b><i>Nrf2</i></b>	<i>AGGCTCAGTCACTCGATAGCTC</i>	<i>TCAGCCTGCTGCTTGTTTTCC</i>
<b><i>Pgc-1<math>\alpha</math></i></b>	<i>TGTGGAACCTCTCTGGAACCTGC</i>	<i>GCCTTGAAAGGGTTATCTTGG</i>
<b><i>Ppara</i></b>	<i>CGGTGTGTATGAAGCCATCTT</i>	<i>GATCAGCATCCCCTCTTTGT</i>
<b><i>Ppary</i></b>	<i>CCCAATGGTTGCTGATTACA</i>	<i>GGACGCAGGCTCTACTTTGA</i>
<b><i>RplpO</i></b>	<i>CACTGGCTGAAAAGGTCAAGG</i>	<i>GACTTGGTGTGAGGGGCTTA</i>
<b><i>Tfam</i></b>	<i>AGCTAAACACCCAGATGCAAA</i>	<i>TCAGCTTTAAAATCCGCTTCA</i>

**Supplementary table 2: Fatty acid composition of oils used in diets (%)**

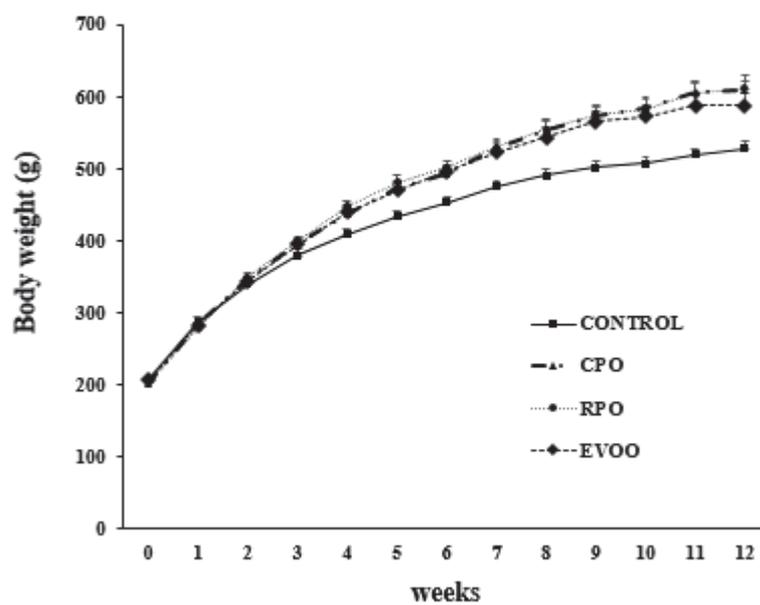
	<b>CONTROL*</b>	<b>CPO**</b>	<b>RPO**</b>	<b>EVOO**</b>
<b>FATTY ACIDS</b>	<b>% mol/mol</b>	<b>% mol/mol</b>	<b>% mol/mol</b>	<b>% mol/mol</b>
C14	0	0.52	0.53	0.03
C16	12.0	38.12	36.48	16.87
16:1n-7	0.6	0.13	0.15	2.01
C18	3.8	5.86	4.87	2.53
18:1n-9	19.7	43.24	46.41	57.97
18:1n-7	0	0.58	0.63	3.11
18:2n-6	55.4	10.03	9.55	15.59
18:3n-3	8.0	0.28	0.16	0.63
C20	0.5	0.36	0.34	0.38
20:1n-9	0	0.13	0.15	0.17
20:1n-7	0	0.18	0.17	0.18
Saturated	16.3	45.05	42.44	20.01
Monounsaturated	20.3	44.42	47.65	63.61
Polyunsaturated	63.5	10.53	9.91	16.38
n-6	55.4	10.13	9.63	15.67
n-3	8.0	0.39	0.28	0.70
n-6/n-3	9.9	25.83	34.58	22.31

\*: Composition of soybean oil according to : Souci, Fachmann & Kraut, Food composition

and nutrition tables. MedPharm, Scientific Publishers, Stuttgart, 2000, p 188.

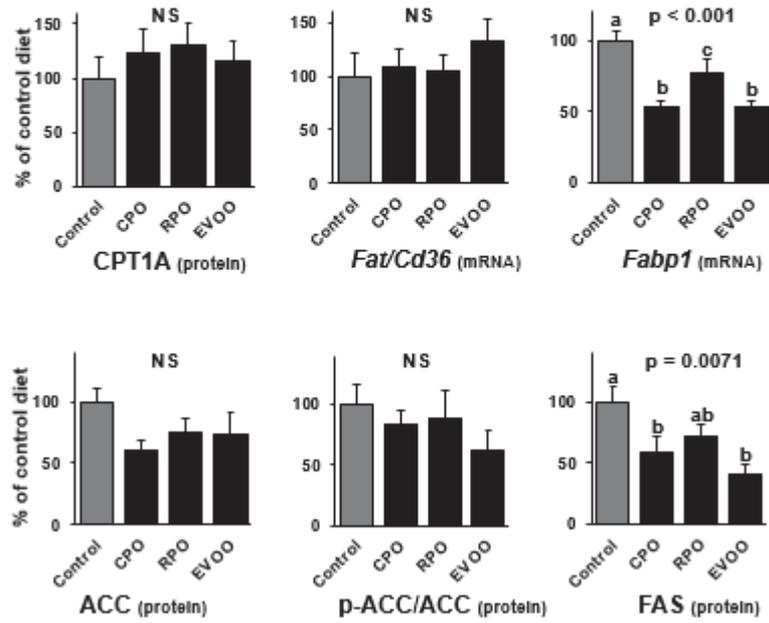
\*\* : Data obtained in our laboratory by analysing crude palm, refined palm and olive oils used in this study.

Figure 1: Body weight evolution during the 12 weeks of diet experiment.

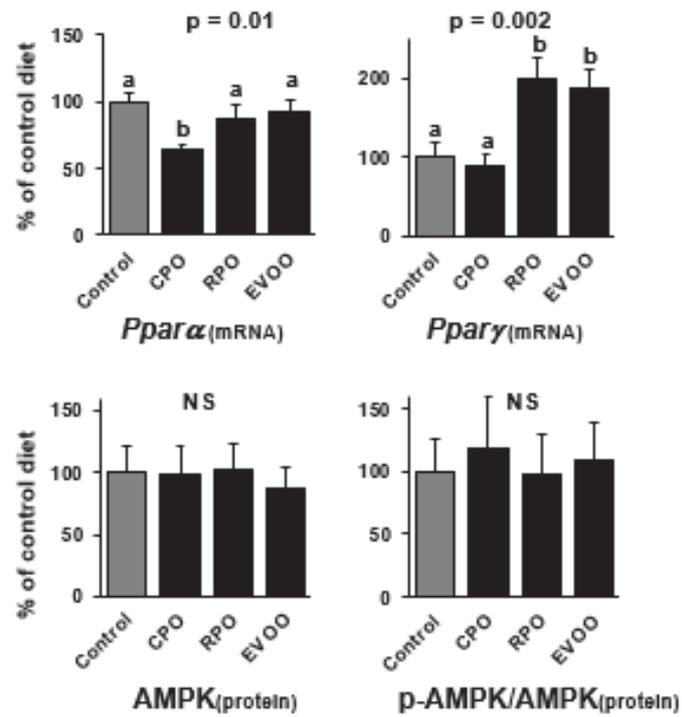


**Figure 2: Liver lipid transport and metabolism**

**A**

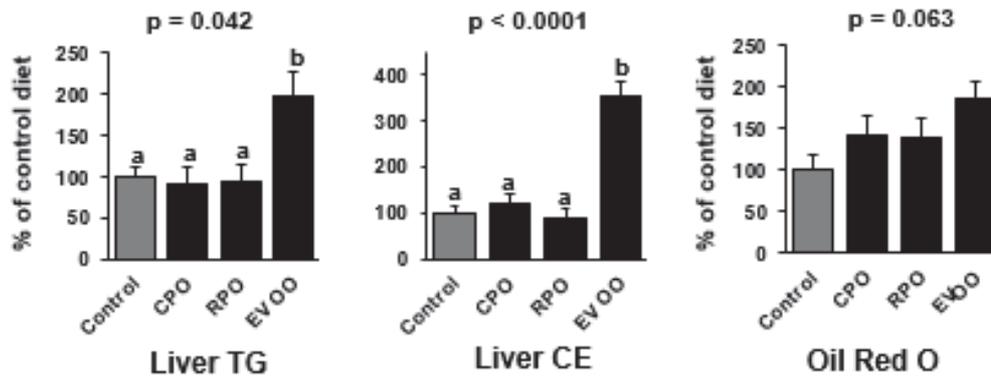


**B**

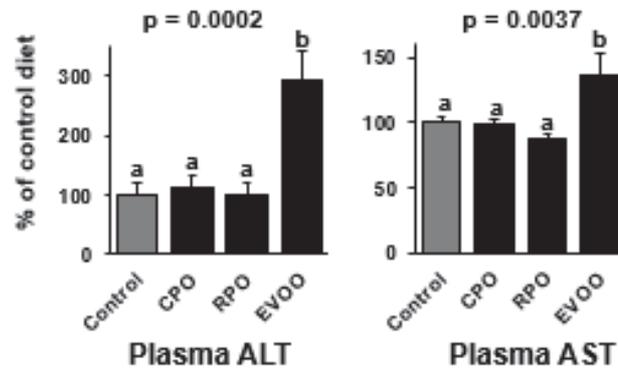


**Figure 3: Liver steatosis**

**A**

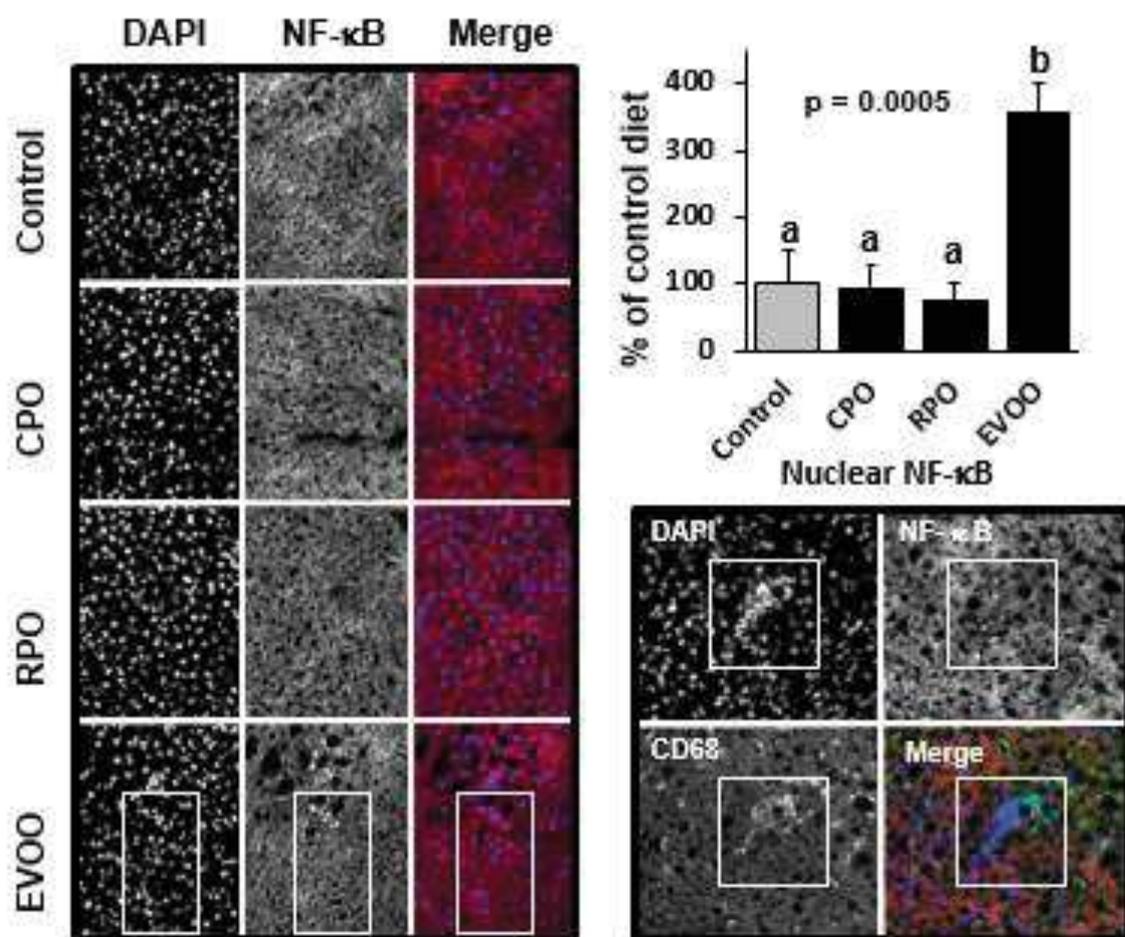


**B**



**Figure 4: Liver inflammation**

**A**



**B**

