



HAL
open science

Influence des modalités d'exercices sur le microbiote intestinal et la masse grasse abdominale : interrelation intestin / tissu adipeux sur des modèles de pathologies inflammatoires.

Florie Maillard

► To cite this version:

Florie Maillard. Influence des modalités d'exercices sur le microbiote intestinal et la masse grasse abdominale : interrelation intestin / tissu adipeux sur des modèles de pathologies inflammatoires.. Santé. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2018. Français. NNT : 2018CLFAS007 . tel-02161439

HAL Id: tel-02161439

<https://theses.hal.science/tel-02161439>

Submitted on 20 Jun 2019

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.

ECOLE DOCTORALE
Des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement
Clermont-Ferrand

Thèse

Pour obtenir le grade de : docteur d'université

Champ disciplinaire :
Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives & biologie santé

Florie MAILLARD

Influence des modalités d'exercice sur le microbiote intestinal et la masse grasse abdominale : interrelation intestin/tissu adipeux sur des modèles de pathologies inflammatoires

Rapporteurs :

Mme Christelle RAMONATXO (MCF-HDR)	DMEM, Université de Montpellier
Mme Marion LECLERC (CR1-HDR)	MICALIS, INRA Jouy-en-Josas, Université Paris-Saclay

Jury :

Mme Nathalie BOISSEAU (Pr)	AME2P, Université Clermont-Auvergne (Directrice de thèse)
Mr Nicolas BARNICH (Pr)	M2iSH, Université Clermont-Auvergne (Directeur de thèse)
Mr Yves BOIRIE (PU-PH)	UNH, Auvergne-Rhône-Alpes (Président de jury)
Mr Vincent PIALOUX (Pr)	LIBM, Université Claude Bernard Lyon 1

Laboratoire (AME2P), Adaptations Métaboliques à l'Exercice en Conditions Physiologiques et Pathologiques, Clermont-Ferrand

Laboratoire (M2iSH), Microbes Intestin Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, Clermont-Ferrand

Remerciements

Je tiens à remercier **Christelle RAMONATXO** et **Marion LECLERC** d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail, d'avoir consacré du temps à la lecture, l'analyse et l'évaluation de ce manuscrit. Je tiens également à remercier **Vincent PIALOUX** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je remercie enfin monsieur **Yves BOIRIE** de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mes premiers remerciements vont naturellement à **Nathalie** pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche et d'avoir rendu possible la réalisation de cette thèse. Merci de m'avoir fait confiance dès le début et de m'avoir épaulée durant ces cinq dernières années. Travailler aux côtés d'une personne aussi motivée et passionnée que vous aura été pour moi une expérience très enrichissante scientifiquement et humainement. Merci également d'avoir été toujours disponible pour me conseiller dans l'écriture ou les expériences, d'avoir été présente à chaque moment important de la thèse qu'il soit bon ou un peu moins bon. Je ne manquerai pas de garder en mémoire tout ce que vous avez fait pour moi et vous souhaite plein de bonnes choses pour les années à venir.

Nicolas, je te remercie d'avoir accepté de participer à ce projet et de nous avoir fait partager tes connaissances scientifiques. J'ai apprécié tes remarques, tes précieux conseils et ta compréhension au cours de ces trois années, qui ont fortement contribué à l'aboutissement de ce travail.

Emilie, je suis chanceuse d'avoir appris à manipuler aux côtés d'une personne aussi dévouée et passionnée que toi. Merci de m'avoir aidée dans cet apprentissage.

Je voudrais remercier également l'ensemble des membres du laboratoire M2iSH qui m'ont permis de me former, de progresser et de réaliser ma thèse dans les meilleures conditions. **Pedro (alias Batman)**, je ne te remercierais jamais assez pour l'aide apportée sur les manips. Tu es quelqu'un de toujours présent lorsqu'il s'agit d'aider les autres, et prêt à accomplir des missions impossibles, un vrai Batman quoi ;-). Je ne suis pas prête d'oublier les moments passés à Theix entre ces 4 murs (« c'est pire que Koh-Lanta ici »), toutes les discussions scientifiques ou pas d'ailleurs, (faut dire que fatigués on a tendance à dériver hihi) que l'on aura eues au cours de ces trois années, sacré WikiPedro ☺. Merci à mes camarades doctorantes ou ex-doctorantes, **Anaïs, Elodie G., Cécily, Amélie L.** (*on est champion, on est chamion, champion du monde 🎵*), **Allison** et **Clara** pour ces moments de papotage, de rigolade

ou d'échanges scientifiques au laboratoire ainsi que votre bonne humeur (voire folie pour certaines :p) au quotidien. Merci pour les quelques sorties que nous avons pu faire, et promis la prochaine fois, je viens me ridiculiser à l'escalade... Je vous souhaite que du bonheur dans vos vies personnelles et professionnelles (la réussite, je n'en doute pas) ! **Elodie B.**, merci pour toutes ces pauses bla-bla, et surtout nos p'tits mojitos du samedi soir qui font du bien au moral. Je te souhaite bon courage pour la fin de la thèse, tu y es presque ! **Alexis**, ce fût un plaisir de partager le temps de quelques mois ce petit bureau et merci de t'être improvisé mécano pour ma clio ☺. **Gwladys (alias le coach)**, notre petit bureau est bien vide depuis ton départ ! On aura bien travaillé, mais aussi bien râlé et bien rigolé (surtout le vendredi... =D). Merci de m'avoir coaché sur la fin de mes manips, je te souhaite le meilleur pour la suite ! **Sandrine**, ma seconde camarade de bureau, merci pour tous les conseils que tu as pu me donner et de m'avoir soutenue pendant les moments un peu plus difficiles. Tu es une personne riche en connaissance, passionnée et qui aime transmettre son savoir aux autres, c'est toujours un réel plaisir d'échanger avec toi. Je remercie également tous les autres membres du laboratoire, **Jannette, Jérémy (le sportif dans l'âme ;-)), Mathilde, Romain, Elisabeth, Patricia, Hang, Adeline, Caroline, Gwennaëlle, Stéphanie, Mickaël, Virginie, Anne-Sophie, Anaëlle, Valérie, Delphine, Alexandra, et Marie-Pierre** pour votre aide, vos précieux conseils et votre disponibilité au quotidien durant ces 3 ans. Merci aussi à **Richard Bonnet, Racha** et **Amélie C.** sans qui l'analyse de la composition du microbiote intestinal n'aurait pas été possible.

Merci également à tous les membres du laboratoire AME2P pour votre implication dans ce travail, et votre sympathie. **Monique, Geoffrey, Alison** et **Yolanda**, vous avez été d'une aide précieuse lors de la réalisation de mes premières expériences en master (n'ayant jamais tenu de pipettes ce n'était pas gagné d'avance !!) jusqu'à la fin de cette thèse, et tout cela dans la bonne humeur. Encore merci pour votre disponibilité et tous vos conseils ! **Antoine S.**, ah sacré Antoine ...! La communication n'aura pas toujours été notre point fort au début, mais sans toi, l'entraîneur personnel de mes petits rats, cette manip aurait été difficilement réalisable. Merci également pour ton aide apportée hors laboratoire dans toutes mes nombreuses galères ! ;-). **Pascal**, merci d'avoir pris de ton temps pour m'aider sur les manips que ce soit pour la planification, la réalisation ou l'interprétation des résultats. **Lore**, merci d'avoir accepté de m'épauler lors de ma toute première manip en master, le western blot (le

premier d'une longue série... !). **David, Julien, Vincent, Sébastien** et **Daniel**, je tenais à vous remercier pour vos conseils depuis mon arrivée au laboratoire. **Vivien**, merci d'avoir été disponible pour m'aider sur les manip ou répondre à mes questions. **Maud**, merci pour la visite guidée à Dijon et notre escapade dans les jeux gonflables du campus restera un très bon souvenir de thèse (sauf mon état avant le grand saut de 5m ^^). **Mélina**, je suis contente d'avoir fait mon retour à l'école avec toi et surtout d'avoir assisté à ta passion naissante pour les rats :D. J'ai aussi une pensée pour **Enzo, Elodie, Sebastian**, et **Pauline**, doctorants ou ex-doctorants qui ont parcouru un bout de chemin avec moi durant cette thèse. **Marine**, la grande sportive, tu as toutes les qualités pour faire une magnifique thèse, alors comme en course à pied ou au foot, fonce, mais surtout éclate toi dans cette nouvelle aventure :D. **Claire**, je te souhaite encore une fois la bienvenue au laboratoire, et de réaliser une belle thèse (PS : le gras c'est la vie ;)).

Je tiens à remercier mes stagiaires d'exception. **Aurore**, dès le premier jour j'ai su qu'on allait bien s'entendre ! Discrète, efficace, autonome, volontaire ... la stagiaire qu'on rêverait tous d'avoir ! Te voir évoluer tout au long de ton stage, prendre de l'assurance et devenir une championne de natation (je rigole encore en repensant à ta marque de bronzage du bonnet de bain hihi) fut un réel plaisir. Je te souhaite le meilleur pour la suite. **Antoine C.**, de tes qualités d'informaticien à biologiste, tu as su gérer brillamment l'encadrement de nos petites souris sportives.

Merci également à **Pierre C.** d'avoir mis en place un système de mesure d'activité physique spontanée de mes petites souris (et de m'avoir fait visiter tous les magasins de bricolage du coin !). Merci à l'équipe de GENOTOUL de m'avoir permis d'observer le séquençage de mes échantillons et pour leur disponibilité. Enfin, un grand merci aux personnel de l'animalerie de Theix, pour votre aide, de vos conseils et de votre bonne humeur tout au long des expérimentations animales.

Une pensée pour mes copains et copines de Baud (et les alentours), avec qui nous aurions passé de folles soirées ... bonne continuation à vous.

Merci aux copines de BTS, **Aurore, Mathilde, Elodie, Laura** et **Claire**, nous avons toujours pu compter les unes sur les autres, que ce soit à l'école ou dans nos vies privées.

Merci pour toutes ces soirées mémorables... la distance nous a un peu éloignées ces dernières années, j'espère bien rattraper le temps perdu.

Merci aux copains, copines de la course à pied (la liste est longue. vous vous reconnaitrez ☺) avec qui j'ai partagé un bon nombre de séances sur piste ou nature, de footings bla-bla, un voyage inoubliable à la Réunion (team mimi !!), un stage en Espagne constituant l'un de mes plus beaux souvenirs sportif... le tout accompagné de bonnes parties de rigolades quotidiennes (ça fait les abdos non ? ;-)). Merci à **Michel** (alias Michou) pour tous ces entraînements, ces conseils et ton investissement au sein du SUAPS. Merci à **David**, d'avoir pris la relève cette dernière année de thèse, d'être autant disponible pour tous les athlètes du club et surtout un énorme merci pour m'avoir fait prendre conscience que les limites sont faites pour être dépassées.

Milo, plus de deux années que tu m'accompagnes (ou me colle plutôt) au quotidien. Drôle, débile, sportif ? et attachant à fois, tu m'as permis d'être plus épanouie et de relativiser. Grâce à toi, j'ai pu également faire la rencontre de nombreuses personnes, devenues des amies dont **Laura**, que je remercie pour tous ces moments mémorables passés au parc ou en sortie course à pied avec nos monstres.

Mon **Pierre**, merci pour tout ce que tu m'apportes depuis le début, d'avoir été un soutien sans faille durant cette tumultueuse aventure qui est la thèse mais sans laquelle je ne t'aurais jamais rencontré. Tu es devenu une personne indispensable à ma vie ... et je te promets que « le meilleur reste à venir ».

Merci à toute la famille Maniguet, les cousins, les cousines, les tontons, les tatas et tata marraine, pour tous ces bons moments passés ensemble. Merci à **papi Roger** et **mamie Gisèle Maillard** d'avoir toujours été là pour notre famille. Merci à mon parrain, tonton **Jean-Marie**, de m'avoir appris et donné à sa façon la force de ne jamais abandonner. **Anne-Lise**, je suis fière d'avoir une petite sœur aussi jolie, intelligente et dont la bonne humeur est contagieuse (pour les talents de trompettiste j'attends de voir ;-). Enfin, un énorme merci à **papa Denis** et **maman Didine** d'être tout simplement, à mes yeux, les meilleurs parents au monde.

Table des matières

Liste des publications et des communications.....	11
Résumé.....	14
Liste des abréviations.....	15
Index des figures.....	17
Index des tableaux.....	19
Introduction.....	20
<i>Revue de littérature</i>	23
I Tissu adipeux et maladies inflammatoires chroniques	24
<i>I.1 Le tissu adipeux</i>.....	24
<i>I.1.1 Les différents tissus adipeux</i>	<i>24</i>
I.1.1.1 Le tissu adipeux blanc	24
I.1.1.2 Le tissu adipeux brun	25
<i>I.1.2 Mécanismes de stockage des graisses : la lipogénèse.....</i>	<i>27</i>
<i>I.1.3 Mécanismes de mobilisation des graisses : la lipolyse.....</i>	<i>29</i>
<i>I.1.4 Localisation du tissu adipeux et implications physiologiques.....</i>	<i>31</i>
I.1.4.1 Localisation du tissu adipeux et risques métaboliques	31
I.1.4.2 Dimorphisme de composition corporelle	32
<i>I.1.5 Méthodes d'évaluation du tissu adipeux</i>	<i>33</i>
<i>I.2 Implication du tissu adipeux viscéral dans les pathologies inflammatoires chroniques</i>.....	33
<i>I.2.1 Obésité</i>	<i>33</i>
I.2.1.2 Tissu adipeux viscéral et obésité	35
<i>I.2.2 Maladie de Crohn.....</i>	<i>38</i>
I.2.2.1 Généralités concernant la maladie de Crohn	38
I.2.2.2 Maladie de Crohn et tissu adipeux viscéral	38
II Implication du microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques.....	44
<i>II.1 Le microbiote intestinal</i>.....	44
<i>II.1.1 Généralités concernant le microbiote intestinal.....</i>	<i>44</i>
<i>II.1.2 Fonctions du microbiote intestinal.....</i>	<i>44</i>
II.1.2.1 Fonction immunitaire	45
II.1.2.2 Fonction de protection	46
II.1.2.3 Fonction métaboliques	46
<i>II.2 Microbiote, maladies inflammatoires et tissu adipeux</i>	47

II.2.1	<i>Dysbiose</i>	47
II.2.1.1	Implication du microbiote intestinal dans la maladie de Crohn	47
II.2.1.2	Implication du microbiote intestinal dans l'obésité	49
II.2.2	<i>Les principaux acteurs impliqués dans l'interaction entre le microbiote intestinal et le tissu adipeux dans l'obésité et la maladie de Crohn.</i>	51
II.2.2.1	"Fasting induced adipose factor"	51
II.2.2.2	Acides gras à chaînes courtes	53
II.2.2.3	Le lipopolysaccharide.....	56
II.2.3	<i>Microbiote, régime de type occidental et maladies chroniques</i>	61
II.3	<i>Modulation du microbiote : enjeux thérapeutiques</i>	62
II.3.1	<i>Aspect qualitatif de l'alimentation</i>	62
II.3.1.1	« Food Bioactive Components »	62
II.3.1.2	Probiotiques et prébiotiques	65
II.3.2	<i>Effets des médicaments</i>	66
II.3.2.1	Antibiotiques.....	66
II.3.2.2	Antidiabétique : focus sur la Metformine	66
II.3.3	<i>Transplantation de microbiote fécale</i>	67
III	Impact de l'activité physique dans l'interaction tissu adipeux – microbiote	70
III.1	<i>Effet des différentes modalités d'exercice sur la perte de masse grasse</i>	70
III.1.1	<i>Entraînement traditionnel pour diminuer la masse grasse</i>	70
III.1.2	<i>Modalités : Focus sur l'entraînement intermittent de haute intensité</i>	73
III.1.2.1	Définition	73
III.1.2.2	Perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale suite à un entraînement HIIT	75
III.1.2.3	Mécanismes impliqués dans la modification de la composition corporelle après un entraînement de type HIIT	76
III.2	<i>Effet de différentes modalités d'exercice dans la maladie de Crohn</i>	80
III.2.1	<i>Les études humaines</i>	80
III.2.1.1	Entraînement intermittent de haute intensité et composition corporelle	81
III.2.1.2	Entraînement intermittent de haute intensité et état inflammatoire	81
III.2.1.3	Etudes chez les animaux	82
III.3	<i>Effets de différentes modalités d'exercice sur le microbiote intestinal</i>	82
III.3.1	<i>Etudes humaines</i>	83
III.3.1.1	Effets de l'exercice lors d'une session	83
III.3.1.2	Comparaison de sujets entraînés vs sujets sédentaires ou effet d'un programme d'entraînement.....	83

III.3.2	<i>Etudes chez les animaux</i>	84
III.3.3	<i>Les mécanismes impliqués dans les effets de l'activité physique sur le microbiote intestinal</i>	90
	<i>Objectifs et hypothèses</i>	94
	<i>Travail expérimental</i>	99
I	Axe d'étude n°1 : Etudes cliniques : HIIT et perte de masse grasse	100
I.1	Méthodologie	100
I.1.1	<i>Sujets</i>	100
I.1.2	<i>Protocole d'entraînement</i>	101
I.1.2.1	<i>Entraînement intermittent de haute intensité (HIIT)</i>	102
I.1.2.2	<i>Entraînement continu d'intensité modérée (MICT)</i>	102
I.1.3	<i>Mesures anthropométriques</i>	102
I.1.4	<i>Composition corporelle</i>	103
I.1.5	<i>Niveau d'activité physique</i>	103
I.1.6	<i>Paramètres sanguins</i>	104
I.1.7	<i>Analyses statistiques</i>	104
	Publication n°1	105
	Résultats complémentaires publication n°1	106
	Publication n°2 (lettre à l'éditeur)	112
	Publication n°3 (méta-analyse)	113
II	Axe d'étude n°2 : Etudes fondamentales mécanistiques : Interactions entre le tissu adipeux et le microbiote intestinal dans deux modèles d'inflammation chronique	114
II.1	Méthodologie	114
II.1.1	<i>Les modèles murins d'obésité et d'inflammation intestinale</i>	114
II.1.1.1	<i>Le rat Zucker (fa/fa)</i>	114
II.1.1.2	<i>La souris CEABAC 10</i>	114
II.1.2	<i>Design de l'étude n°1 : effet de l'exercice en prévention secondaire dans un contexte d'obésité</i>	115
II.1.3	<i>Design de l'étude n°2 : Effet de l'exercice en prévention primaire dans un contexte d'inflammation intestinale (maladie de Crohn)</i>	115
II.1.4	<i>Alimentation</i>	117
II.1.5	<i>Activité physique</i>	117
II.1.5.1	<i>Etude prévention secondaire : obésité</i>	117
II.1.5.2	<i>Etude prévention primaire : maladie de Crohn</i>	118
II.1.6	<i>Mesure du poids et de la composition corporelle</i>	119

II.1.7	<i>Test de tolérance au glucose (OGTT) et profil glucidique</i>	119
II.1.8	<i>Calorimétrie indirecte</i>	119
II.1.9	<i>Sacrifice des animaux</i>	120
II.1.10	<i>Dosages plasmatiques</i>	120
II.1.10.1	Profil lipidique	120
II.1.10.2	Inflammation systémique	121
II.1.11	<i>Sécrétion des cytokines et des acides gras libres par le tissu adipeux</i>	121
II.1.11.1	Réalisation des incubations de tissu adipeux :	121
II.1.11.2	Quantification des cytokines et des acides gras libres sécrétés par le tissu adipeux.....	122
II.1.12	<i>Quantification des protéines par Western blot</i>	123
II.1.12.1	Extraction des protéines	123
II.1.12.2	Dosage des protéines et préparation des échantillons	123
II.1.12.3	Western blot	124
II.1.13	<i>Analyse de l'expression des gènes par RT-qPCR</i>	125
II.1.13.1	Extraction des ARN	125
II.1.13.2	Reverse Transcriptase (RT)	125
II.1.13.3	qPCR.....	126
II.1.14	<i>Analyse de la composition du microbiote intestinal</i>	128
II.1.14.1	Extraction d'ADN.....	128
II.1.14.2	Séquençage Illumina Miseq	128
II.1.15	<i>Quantification des acides gras à chaînes courtes</i>	130
II.1.16	<i>Statistiques</i>	130
	Publication n°1	131
	Résultats complémentaires publication n°1	132
	Publication n°2	139
	Résultats complémentaires publication n°2	140
	<i>Discussion générale et perspectives</i>	148
	<i>Schéma bilan du travail de thèse</i>	158
	<i>Références bibliographiques</i>	160
	<i>Annexes</i>	203

Liste des publications et des communications

Publications dans des revues d'audience internationale (indexées ISI)

***Maillard F.**, Pereira B. & Boisseau N. Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis. *Sports Med.* 48, 269–288, 2018 (IF₂₀₁₇: 6.832).

***Maillard F.**, Rousset S., Pereira B., Amidou Traore A., Philippe de Pradel Del Amaze P., Boirie Y., Duclos M., Boisseau N. High Intensity Interval Training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolism.* 42(6):433-441, 2016 (IF₂₀₁₄: 3.267).

Publications en cours d'écriture ou soumises dans des revues d'audience internationale (indexées ISI)

***Maillard F.**, Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Chevarin C., Bonnet R., Combaret L., Chausse P., Otero Y. F., Delcros G., Chavanelle V., Boisseau N. & Barnich N. Preventive effect of spontaneous physical activity on gut-adipose tissue cross-talk in mice model mimicking Crohn's disease susceptibility. *Gut.* (Soumission septembre 2018)(IF₂₀₁₇: 17.016).

***Maillard F.**, Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Combaret L., Sourdrille A., Chavanelle V., Bonnet R., Otero Y. F., Delcros G., Barnich N. & Boisseau N. High intensity interval training favours total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats without gut microbiota modulation. *Journal of Applied Physiology.* (Soumission juillet 2018)(IF₂₀₁₇: 3.256).

Maillard F., Dupuit M., Pereira B., Lancha Junior AH., Boisseau N. Efficacy of HIIT on weight, total and abdominal fat mass in women before and after menopause: a meta-analysis. *Journal of Sport and Health Science.* (Soumis le 19 juillet 2018)(IF₂₀₁₇: 2.591). (*Document en annexes*)

Groussard C., **Maillard F.**, Vazeille E., Barnich N., Sirvent P., Otero Y., Combaret L., Madeuf E., Sourdrille A., Delcros G., Etienne M., Teixeira A., Sauvanet P., Pialoux V., Boisseau N. High intensity interval training is less efficient than moderate intensity continuous training to improve pro/antioxidant status in Zucker rat adipose tissue but is more efficient in muscles. *Acta Physiologica.* (En cours d'écriture)(IF₂₀₁₇: 5.93). (*Document en annexes*)

Rousset S., **Maillard F.**, Duclos M., Boisseau N. Impact of spontaneous physical activity of postmenopausal women with type 2 diabetes on anthropometric and cardiovascular parameters: a prospective study. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness.* (En cours d'écriture)(IF₂₀₁₇: 1.120).

- ***Lettres à l'éditeur***

***Maillard F.**, Rousset S., Bruno P., Boirie Y., Duclos M., Boisseau N. High intensity interval training is more effective than moderate intensity continuous training in reducing abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized crossover study. *Diabetes & Metabolism.* (Soumis le 24 Août 2018)(IF₂₀₁₄: 3.267).

Maillard F., Pereira B. & Boisseau N. Author's Reply to Andreato et al.: Comment on: "Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis". Sports Med (2018)(IF₂₀₁₇: 6.832). (*Document en annexes*)

Maillard F., Pereira B. & Boisseau N. Author's Reply to Li et al: Comment on: "Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis". Sports Med (2018)(IF₂₀₁₇: 6.832). (*Document en annexes*)

Publications dans des revues de vulgarisation (nationales et internationales)

Maillard F., Rousset S., Pereira B., Traore A., Philippe de Pradel Del Amaze P., Yves Boirie Y., Duclos M., Boisseau N. Comparaison de deux modalités d'entraînement de 4 mois sur la perte de masse grasse abdominale chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2. Publication Région Auvergne-Rhône Alpes, Septembre 2016.

Communications orales internationales

Groussard C., **Maillard F.**, Vazeille E., Barnich N., Sirvent P., Otero Y., Combaret L. Madeuf E., Sourdrille A., Delcros G., Etienne M., Teixeira A., Sauvanet P., Pialoux V., Boisseau N. The effects of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on pro/antioxidant status in male Zucker rats are tissue specific. 23th European Congress of Sport Sciences, Dublin, Ireland, 4-7 Juillet 2018.

Maillard F., Rousset S., Traore A., Metz L., de Pradel Del Amaze P., Boirie Y., Martine Duclos M., BOISSEAU N. Effectiveness of High Intensity Interval Training for decreasing abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. 20th European Congress of Sport Sciences, Vienne, Autriche, 6-9 Juillet 2016.

Chavanelle V., BOISSEAU N., **Maillard F.**, Combaret L., Dardevet D., Montaurier C., Denis P., Metz L., Peltier S., Sirvent P. High intensity interval training improves glucose metabolism in diabetic mice despite the absence of mitochondrial adaptations. 20th European Congress of Sport Sciences, Vienne, Autriche, 6-9 Juillet 2016.

Communications orales nationales

Maillard F., Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Combaret L., Bonnet R., Sourdrille A., Otero Y., Delcros G, Chavanelle V., Said F., Barnich N. & Boisseau N. Effet de différentes modalités d'exercice sur le cross-talk intestin/tissu adipeux chez des rats obèses. 17^{ème} Congrès de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives (ACAPS), Dijon, 29-31 Octobre, 2017.

Maillard F., Lore Metz L., Penando S., Rousset S., Boirie Y., Duclos M., BOISSEAU N. Effet d'un programme d'activité physique intermittent de haute intensité chez la femme DT2 ménopausée. Journée scientifique CRNH, Clermont-Ferrand, 26 Novembre 2015.

Maillard F., Justine Tépinié F., Metz L., Lavigne J., Derkaoui S., Penando S., BOISSEAU N. Effet d'un programme intermittent de haute intensité sur la perte de masse grasse abdominale chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2. 16^{ème} Congrès de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives (ACAPS), Nantes, 26-28 Octobre, 2015.

Communications affichées internationales

Maillard F., Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Combaret L., Sourdrille A., Chavanelle V., Bonnet R., Otero Y. F., Delcros G., Barnich N. & Boisseau N. HIIT-induced total and visceral fat mass loss is not linked to altered gut microbiota composition in obese rats. 23th European Congress of Sport Sciences, Dublin, Ireland, 4-7 Juillet 2018.

Maillard F., Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Chavanelle V., Combaret L., Bonnet R., Otero Y., Barnich N., Boisseau N. HIIT favors total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats independently of gut microbiota modulation. Keystone symposia on molecular and cellular biology. Manipulation of the Gut Microbiota for Metabolic Health (X3), Banff, Canada, March 4-8, 2018.

Maillard F., Rousset S, Boirie Y, Duclos M, Boisseau N. Impact of high intensity interval or moderate intensity continuous training program on body composition changes in type 2 diabetes postmenopausal females: a randomized crossover study. Cell Symposia, Exercise Metabolism, Göttenburg, 21-24 Mai 2017.

Boisseau N., Isacco L., Metz L., Sirvent P., Lavigne J., Derkaoui S., Penando S., **Maillard F.** Effect of High-intensity Intermittent Exercise On Abdominal Fat Mass In Type 2 Diabetes Postmenopausal Women. ACSM Annual Meeting. San Diego, California. 26-30 Mai, 2015.

Communications affichées nationales

Maillard F., Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Bonnet R., Combaret L., Buisson A., Chausse P., Otero Y., Delcros G., Chavanelle V., Barnich N. & Boisseau N. Effet de l'activité physique sur l'interaction intestin – tissu adipeux dans le cadre de la maladie de Crohn. Journées francophones d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive (JFHOD), Paris. 22-25 mars 2018.

Maillard F., Vazeille E., Sauvanet P., Sirvent P., Combaret L., Bonnet R., Sourdrille A., Otero Y., Delcros G., Chavanelle V., Said F., Barnich N. & Boisseau N. Effet de différentes modalités d'exercice sur le cross-talk intestin/tissu adipeux chez des rats obèses. Journées de l'école doctorale (JED), Clermont-ferrand. 18-18 mai 2017.

**Publications discutées dans le manuscrit.*

Résumé

L'obésité et la maladie de Crohn (MC) sont deux pathologies inflammatoires chroniques caractérisées par un développement de la masse grasse viscérale et une dysbiose. L'activité physique (AP) impactant positivement ces deux paramètres, elle apparaît donc comme une stratégie thérapeutique prometteuse dans la prise en charge de ces patients. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail était d'étudier l'effet de l'AP sur l'interaction microbiote-tissu adipeux. Sur un versant clinique, nos résultats ont confirmé l'efficacité de l'entraînement intermittent de haute intensité (HIIT) pour diminuer le tissu adipeux viscéral chez des sujets en surpoids et/ou obèses. Sur un modèle d'obésité génétique (rat Zucker), nos travaux ont montré que l'entraînement de type HIIT diminuait la masse grasse totale et viscérale mais cela indépendamment du microbiote intestinal. L'étude de la voie de la lipolyse a montré un effet anti-lipolytique du HIIT dans le tissu adipeux sous-cutané, pouvant ainsi partiellement expliquer la diminution du tissu adipeux viscéral. En outre, le HIIT améliore, pour une moindre durée de pratique (vs. l'entraînement continu d'intensité modérée), la tolérance au glucose et le statut inflammatoire. Dans un modèle d'inflammation intestinale mimant la MC, nous avons également mis en évidence que l'AP spontanée augmentait l'expression des protéines des jonctions serrées pouvant participer à la réduction de l'endotoxémie métabolique. En parallèle, l'AP spontanée favorise les bactéries bénéfiques pour la santé et augmente les niveaux de butyrate dans les selles. Ces adaptations participent à la réduction du tissu adipeux viscéral mésentérique caractérisant la MC. En conclusion, l'AP, à travers différentes modalités d'exercice, se révèle comme une « thérapie » attractive et innovante dans la prévention et/ou la prise en charge de ces pathologies inflammatoires chroniques.

Abstract

Obesity and Crohn's disease (CD) are two chronic inflammatory diseases characterized by development of visceral fat mass and dysbiosis. Physical activity (PA) has a positive impact on these two parameters. Consequently, PA appears as a promising therapeutic strategy for the management of these patients. In this context, the objective of this work was to study the effect of PA on the microbiota-adipose tissue cross-talk. Our clinical results confirmed the effectiveness of high intensity intermittent training (HIIT) to reduce visceral adipose tissue in overweight and/or obese volunteers. Then, using an animal model of genetic obesity (Zucker rats), we found that HIIT decreases total and visceral fat mass, independently of gut microbiota. Analysis of the lipolysis pathway showed an anti-lipolytic effect of HIIT in the subcutaneous adipose tissue, and this could explain the decrease in visceral adipose tissue. In addition, compared with continuous moderate intensity training, HIIT improved glucose tolerance and the inflammatory status despite the shorter exercise duration. Finally, in an animal model of CD, we found that spontaneous PA increased the expression of tight junction proteins, contributing to the reduction of metabolic endotoxemia. Concomitantly, spontaneous PA promoted healthy bacteria in the colon and increased fecal butyrate levels. These adaptations limited the expansion of mesenteric visceral adipose tissue, a typical CD feature. In conclusion, PA, through different exercise modalities, appears as an attractive and innovative « therapy » for these two chronic inflammatory diseases.

Liste des abréviations

ABHD5 : Abhydrolase contenant le domaine 5

ACSM: American college of sports medicine

AGCC: Acides gras à chaîne courtes

AGL: Acide gras libre

AIEC: Adherent-invasive *E. coli*

AIT: Aerobic interval training

ALA: Acide linoléique

AMPc: Adénosine monophosphate cyclique

AMPK: AMP-activated protein kinase

AP: Activité physique

ATGL: Adipose triglyceride lipase

CEACAM: Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule

CF: Creeping fat

CLS: Crown-like structure

CPT: Carnitine palmitoyltransférase

CRP: C-reactive protein

CS: Citrate synthase

CT-scan: Computerized tomography scan

DE: Dépense énergétique

DHA: Acide docosahexaénoïque

DXA: Dual-energy X-ray absorptiometry

eCB: Système endocannabinoïde

EPA: Acide eicosapentaénoïque

FABPpm: Membrane associated fatty acid binding protein

FAS: Fatty acid synthase

FAT: Fatty acid translocase

FC: Fréquence cardiaque

FIAF: Fasting induced adipose factor

FXR: Farnesoid X receptor

GLP-1: Glucagon-like peptide-1

GPR: G-protein-coupled receptors

HF: High fat

HIF1- α : Hypoxia-inducible factor 1

HIIT: High intensity interval training

HS: High sugar

IKL: Lipides intrahépatiques

IL: Interleukin

IMC: Indice de masse corporel

IMCL: Lipides intramyocellulaires

IRS-1: Insulin receptor substrate 1

LBP: LPS-binding protein

LHS: Lipase hormono sensible

LPL: Lipoprotéine lipase

LPS: Lipopolysaccharide

LT: Lymphocyte T

MC: Maladie de Crohn

MCP-1: Monocyte chemoattractant protein 1

MCV: Maladies cardio-vasculaires

DT2: Diabète de type 2

MG: Masse grasse

MICI: Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

MICT: Moderate-intensity continuous training

MPO: myeloperoxidase

MRI: Imagerie à résonance magnétique

NF- κ B: Nuclear factor-kappa B

OMS: Organisation mondiale de la santé

PGC-1 α : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

PPAR- γ : Peroxisome proliferator-activated receptor *gamma*

QR: Quotient respiratoire

SIT: Sprint interval training

TA: Tissu adipeux

TG: Triglycérides

TGR5: G protein-coupled bile acid receptor

TLR: Toll-like receptor

TMF: Transplantation de microbiote fécale

TNF- α : Tumor Necrosis factor alpha

UCP-1: Uncoupling protein 1

VEGF: Vascular endothelial growth factor

VO₂max: Consommation maximale d'oxygène

β -HAD: 3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase

Index des figures

Figure 1 : La lipolyse dans l'adipocyte humain.....	30
Figure 2 : Le dimorphisme de composition corporelle	32
Figure 3 : Différentes caractéristiques entre le tissu adipeux de sujet minces et obèses.....	36
Figure 4 : Illustration du tissu adipeux mésentérique à différents niveaux	39
Figure 5 : Boucle d'amplification de l'inflammation provoquée par le tissu adipeux mésentérique	42
Figure 6 : Diversité et densité des espèces microbiennes dominantes dans les différentes régions du tractus gastro-intestinal	45
Figure 7 : Les différents mécanismes d'invasion de la barrière intestinale par <i>Escherichia coli</i> Adhérent-Invasif (AIEC)	49
Figure 8 : Effet du microbiote intestinal sur la santé de son hôte.....	52
Figure 9 : Production des principaux acides gras à chaînes courtes.....	54
Figure 10 : Reconnaissance du LPS et formation du complexe TLR-4 – MD2 afin d'induire la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires	58
Figure 11 : Paramètres à prendre en compte pour la réalisation d'un transfert de microbiote fécal (TMF).....	68
Figure 12 : Différents profils métaboliques selon le concept du « crossover ».....	72
Figure 13 : Les différentes intensités entre un entraînement de type continu modéré et fractionné à haute intensité.....	73
Figure 14 : Effet du HIIT sur la lipolyse adipocytaire et l'oxydation des lipides musculaire....	79
Figure 15 : Mécanismes impliqués dans la modification du microbiote intestinal suite à un entraînement.....	92
Figure 16 : Schéma illustrant les hypothèses de ce travail de thèse	95
Figure 17 : Schéma du protocole de l'étude clinique 1	101
Figure 18 : Evolution de la prise alimentaire entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16)	107
Figure 19 : Evolution du comportement alimentaire entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention.....	108
Figure 20 : Evolution du niveau d'activité physique mesuré par l'IPAQ entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16).....	109

Figure 21 : Schéma de l'étude croisée	111
Figure 22 : Schéma du protocole de l'étude n°1 dans un contexte d'obésité.....	115
Figure 23 : Schéma du protocole de l'étude n°2 dans un contexte d'inflammation intestinale (maladie de Crohn).....	116
Figure 24 : Composition du régime standard A03 provenant de chez Safe.	117
Figure 25 : Composition du régime « high fat / high sugar- HF/HS» 230	117
Figure 26 : Système de mesure de l'activité spontanée des animaux.....	118
Figure 27 : DEseq2 pour l'étude obésité	133
Figure 28 : Quantité du récepteur aux estrogènes α et β ainsi que leur rapport dans le tissu adipeux déterminé par western-blot	135
Figure 29 : Expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)	136
Figure 30 : Cytokines KC et IL-6 secrétées par le colon.....	137
Figure 31 : Profondeur des cryptes intestinales	137
Figure 32 : Suivi de la lipocaline fécale.....	138
Figure 33 : Suivi de l'activité spontanée des souris pendant les 12 semaines avant exposition bactérienne	141
Figure 34 : Montage du système au niveau de la roue d'activité physique spontanée	141
Figure 35 : Prise alimentaire hebdomadaire pré-exposition bactérienne.....	142
Figure 36 : Prise alimentaire journalière pendant l'exposition bactérienne	142
Figure 37 : Sécrétion par le tissu adipeux mésentérique d'agents impliqués dans l'inflammation	143
Figure 38 : Sécrétion par le colon de cytokines pro-inflammatoires.....	144
Figure 39 : Profondeur des cryptes intestinales	144
Figure 40 : Suivi de la lipocaline fécale.....	145
Figure 41 : Suivi de la chitinase fécale.....	145
Figure 42 : Abondance des genres bactériens dans le tissu adipeux mésentérique	146
Figure 43 : Effet l'activité physique sur la présence ou l'absence de bactérie dans le tissu adipeux mésentérique	147
Figure 44 : Abondance des genres bactériens dans le tissu adipeux mésentérique des 6 souris les plus riches en bactéries	147
Figure 45 : Schéma bilan du travail de thèse	159

Index des tableaux

Tableau 1 : Comparaison de l'implication du tissu adipeux sous-cutané et viscéral dans les mécanismes inflammatoires et métaboliques.....	26
Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques et fonctions des tissus adipeux brun, blanc et beige.....	28
Tableau 3 : Comparaison des différentes méthodes d'évaluation de la masse grasse totale.	34
Tableau 4 : Classification du statut pondéral selon l'indice de masse corporel.....	35
Tableau 5 : Comparaison des caractéristiques du tissu adipeux viscéral entre des sujets obèses et atteints de la maladie Crohn.....	40
Tableau 6 : Composition d'une alimentation de type occidentale et non occidentale et leurs conséquences sur la santé	63
Tableau 7 : Recommandations d'activité physique pour la population générale adulte.....	71
Tableau 8 : Effet de l'activité physique sur le microbiote intestinal.....	85
Tableau 9 : Evolution des micro et macronutriments entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16)	107
Tableau 10 : Tableau des dilutions échantillons de tissus adipeux pour la quantification des protéines par ELISA.	122
Tableau 11 : Tableau des dilutions des anticorps utilisés pour la quantification des protéines par ELISA.....	123
Tableau 12 : Dilution des anticorps utilisés pour la quantification des protéines par western-blot.	124
Tableau 13 : Composition du mélange (mix) pour réaliser la Reverse Transcriptase (RT)	126
Tableau 14 : Composition du mix utilisé pour la réaction en chaine par polymérase	127
Tableau 15 : Séquences des amorces utilisées pour l'étude n°1	127
Tableau 16 : Composition du mélange utilisé pour la réaction en chaine par polymérase ..	129
Tableau 17 : Pesée des différents tissus adipeux.....	133

Introduction

L'obésité et la maladie de Crohn (MC) sont deux pathologies inflammatoires chroniques qui constituent actuellement des problèmes majeurs de santé publique. Ces deux maladies chroniques sont caractérisées par une expansion du tissu adipeux viscéral (Bertin et al., 2010; Kredel et Siegmund, 2014) ainsi qu'une dysbiose (Hall et al., 2014; Kallus et Brandt, 2012), correspondant à un déséquilibre entre les bactéries bénéfiques et les bactéries pro-inflammatoires.

L'obésité est définie comme étant une accumulation anormale ou excessive de graisses qui présente un risque pour la santé. Toutefois, un stockage des graisses au niveau abdominal, principalement viscéral, est plus délétère qu'un excès de masse grasse en soit (Cornier et al., 2011), participant ainsi à la mise en place d'une inflammation systémique chronique. Dans cette population de sujets obèses, l'étude de la composition du microbiote révèle une diminution de la diversité microbienne en comparaison à des sujets normo-pondérés, reflétant alors un profil métabolique et inflammatoire délétère (Tilg et Kaser, 2011). La fonction microbienne est également impactée via une altération du rapport Firmicutes/Bacteroidetes (Harley et Karp, 2012). Dans ce contexte, une récente étude a établi un lien entre les modifications du microbiote intestinal dans les fèces et la quantité de masse grasse viscérale (Beaumont et al., 2016). Ces auteurs ont confirmé l'augmentation des *Firmicutes* dans le contexte d'obésité. Toutefois, ils ont montré qu'au sein d'un même phylum, certaines bactéries pouvaient être modulées différemment. A titre d'exemple dans ce phylum, *Oscillospira* s'est avérée protectrice vis-à-vis du tissu adipeux viscéral contrairement à *Blautia* qui est un marqueur potentiel du risque cardio-vasculaire (Beaumont et al., 2016). Une balance énergétique positive déclenche et/ou favorise cette dysbiose aboutissant à une altération de la perméabilité intestinale (Agus et al., 2016). La translocation qui en résulte permet le passage de composés microbiens comme le lipopolysaccharide (LPS) initiant/aggravant le statut métabolique et inflammatoire (Cani et al., 2012).

Le dialogue microbiote – intestin - tissu adipeux peut également être envisagé dans la MC, une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI). Cette pathologie résulterait d'une réponse immunitaire aberrante en réponse à une stimulation par le microbiote

intestinal chez des individus génétiquement prédisposés et/ou sous l'influence de facteurs environnementaux (Baumgart et Sandborn, 2007). Dans ce contexte, la dysbiose entraîne également une augmentation de la perméabilité intestinale favorisant de ce fait la translocation bactérienne. Cette perturbation de l'homéostasie participe à l'expansion du tissu adipeux mésentérique, pouvant recouvrir jusqu'à 50% de l'intestin. Les dépôts de tissu adipeux ectopiques caractéristiques de la MC, nommés en anglais « creeping fat » ou « wrapping fat » sont également utilisés au diagnostic de la pathologie (Kredel et Siegmund, 2014; Sheehan et al., 1992). Ce tissu adipeux est un véritable producteur de médiateurs ayant un rôle dans l'inflammation, tels que la leptine, l'adiponectine, la résistine, des chimiokines (MCP-1) et des cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- α etc.), participant alors à l'inflammation systémique et intestinale (Batra et al., 2012; Paul et al., 2006). En retour, ces médiateurs participent à l'expansion de ce tissu adipeux mésentérique, provoquant un véritable cercle vicieux (Peyrin-Biroulet et al., 2007). De ce fait, aujourd'hui, ce tissu adipeux est reconnu comme étant une des caractéristiques de la pathologie, et est à cibler pour améliorer la qualité de vie des patients (Serena et al., 2017).

L'activité physique, à travers ses différentes modalités, peut-être envisagé comme aide thérapeutique chez ces patients. En effet, l'activité physique, notamment l'entraînement intermittent de haute intensité (HIIT), réduit la masse grasse viscérale chez des personnes normo-pondérées et/ou obèses (Boutcher, 2011; Trapp et al., 2008). L'activité physique, spontanée ou des exercices continus d'intensité modérée (MICT), couramment utilisés dans ce type de protocoles, peuvent également prévenir et/ou limiter la survenue d'une inflammation induite soit par un régime « high fat » (HF), ou chimiquement (Allen et al., 2017; Evans et al., 2014; Liu et al., 2015) et protégerait du risque de développer une MC (Wang et al., 2016). De plus, l'effet de l'activité physique sur le microbiote intestinal s'est avéré prometteur aussi bien chez l'animal que chez l'Homme (Allen et al., 2017; Barton et al., 2017; Evans et al., 2014; Monda et al., 2017) et pourrait ainsi optimiser le dialogue intestin- tissu adipeux.

Le premier objectif de ce travail était de démontrer l'efficacité de la modalité HIIT pour réduire la masse grasse viscérale chez l'Homme. Le second objectif visait à évaluer l'impact de différentes modalités d'exercice sur la modification de la composition du microbiote intestinal dans le contexte de deux pathologies que sont la maladie de Crohn

et l'obésité. Dans chaque étude, les éventuels changements observés au niveau du microbiote ont été corrélés à l'évolution quantitative et qualitative du tissu adipeux viscéral en utilisant des modèles animaux.

Une première partie introductive à ce travail décrira l'implication des différents tissus adipeux dans la maladie de Crohn et l'obésité. Après avoir exposé les connaissances actuelles concernant l'interaction entre le tissu adipeux et le microbiote dans le cadre de ces pathologies chroniques, l'effet de différentes modalités d'exercice sur cette interaction sera abordé. Dans une deuxième partie, les travaux expérimentaux effectués au cours de cette thèse seront exposés et discutés. Le premier axe de travail consistait à étudier l'effet de différentes modalités d'exercice (HIIT vs MICT) sur la masse grasse abdominale et notamment viscérale chez des sujets en surpoids et/ou obèses. Les travaux du deuxième axe se sont attachés à démontrer l'éventuel lien entre la perte de masse grasse abdominale (viscérale) induite par l'entraînement et la composition du microbiote sur des modèles animaux. En dernière partie de ce document, une discussion générale portant sur les deux axes sera développée et les perspectives de ce travail seront exposées.

Revue de littérature

I Tissu adipeux et maladies inflammatoires chroniques

I.1 Le tissu adipeux

I.1.1 Les différents tissus adipeux

I.1.1.1 Le tissu adipeux blanc

Le tissu adipeux blanc, longtemps considéré comme un simple organe de stockage de l'énergie en excès et de libération des lipides en fonction des besoins métaboliques, est maintenant reconnu comme un organe ayant des fonctions endo-, auto- et paracrines. En effet, il secrète des adipokines (leptine, adiponectine, résistine *etc.*), des cytokines (facteur de nécrose tumorale α ; TNF- α « tumor necrosis factor - α », IL-6 ; « interleukine-6 » *etc.*), des chimiokines, et acides gras libres (AGL) jouant un rôle primordial dans le métabolisme. Il est majoritairement constitué d'adipocytes et d'une fraction stroma-vasculaire qui contient des cellules sanguines, des cellules endothéliales et des macrophages. Les deux tissus adipeux, sous-cutané et viscéral, composant le tissu adipeux blanc, présentent des caractéristiques qui leurs sont propres et génèrent ainsi des effets différents sur le métabolisme et la santé (Després et Lemieux, 2006) (Tableau 1).

I.1.1.1.1 *Le tissu adipeux sous cutané*

Le tissu adipeux sous cutané situé juste sous la peau, constitue environ 80-90% de la masse grasse (MG) totale (Arner, 1997). Il présente une insensibilité relative au stimulus lipolytique (récepteur β -adrénergique) associé à une sensibilité au stimulus anti-lipolytique (récepteur α -adrénergique). De plus, ce tissu est caractérisé par une activité importante de la lipoprotéine lipase (LPL), des adipocytes de grande taille, une capacité de prolifération et différenciation élevée ainsi qu'une résistance à l'apoptose (White et Tchoukalova, 2014). Ces caractéristiques reflètent alors une grande capacité de stockage (Tchernof et al., 2006). Toutefois, cette capacité d'extension et/ou l'apparition de nouveaux adipocytes sont limités, soit génétiquement ou par l'apparition de dysfonctionnements, une résistance à l'insuline pour exemple (Leyvraz et al., 2008).

I.1.1.1.2 *Le tissu adipeux viscéral*

Par définition, le tissu adipeux viscéral fait référence au dépôt graisseux autour des organes. Il est composé du tissu adipeux omental, mésentérique, péri-rénal et chez les

rongeurs du tissu adipeux périgonadal (épididymal). Le tissu adipeux mésentérique et omental sont drainés par la veine porte directement au foie tandis que le tissu adipeux péri-rénal et mésentérique sont eux drainés au niveau systémique via la veine cave inférieure et supérieure (Item et Konrad, 2012). Le tissu adipeux viscéral est caractérisé par une sensibilité supérieure à l'effet des catécholamines, via une plus grande proportion de récepteurs β -adrénergiques, associée à une faible réponse de l'effet anti-lipolytique de l'insuline (Tchernof et al., 2006). Il en résulte alors une forte activité lipolytique, provoquant une libération importante d'acides gras libres.

I.1.1.2 Le tissu adipeux brun

Pendant très longtemps, il a été admis que le tissu adipeux brun disparaissait chez l'humain avec l'âge. Aujourd'hui, les différentes techniques, comme le PET scan ont permis de montrer que ce tissu était bien présent chez l'adulte au niveau inter-scapulaire, axillaire, para-vertébrale, et des sites péri-rénaux. Contrairement au tissu adipeux blanc, ce tissu adipeux est caractérisé par la présence élevée d'UCP-1 (« Mitochondrial uncoupling proteins » ; un marqueur principal d'identification du TA brun) (Fedorenko et al., 2012; Golozoubova et al., 2006; Nicholls et al., 1978), de mitochondries ainsi qu'une importante vascularisation et innervation (Tableau 2). Lors d'une exposition au froid, les AGL issus de la lipolyse sont métabolisés par UCP-1 afin de produire de la chaleur et augmenter le métabolisme sans frissonner (Heaton et al., 1978; Ricquier and Kader, 1976), lui conférant ainsi un rôle anti-obésité. En effet, il a été montré qu'une fois entièrement activé il pouvait contribuer à 5% du métabolisme basal (van Marken Lichtenbelt et al., 2009) et que sa quantité et son activité étaient 4 fois plus élevées chez des personnes minces par rapport à des individus en surpoids et/ou obèses (Rothwell and Stock, 1979). De plus, plusieurs études ont mis en évidence une corrélation négative entre ce tissu et l'obésité (Cypess et al., 2009; Wang et al., 2015) ainsi que la masse grasse viscérale (Saito et al., 2009; Wang et al., 2015). Il est intéressant de noter que ce tissu adipeux serait plus abondant chez les femmes (Cypess et al., 2009).

Tableau 1 : Comparaison de l'implication du tissu adipeux sous-cutané et viscéral dans les mécanismes inflammatoires et métaboliques.

INFLAMMATION	<i>Prolifération bactérienne de l'intestin grêle</i>	TAv>TAsc (Corrélation)
	<i>Vascularisation et innervation / VEGF</i>	TAv>TAsc
	<i>Angiotensinogène</i>	TAv>TAsc
	<i>Macrophage, CD68 et CD163</i>	TAv>TAsc
	<i>TNF-α</i>	TAv=TAsc TAv>TAsc
	<i>Omentine et résistine</i>	TAv>TAsc
	<i>IL-6 et IL-8, 11β-HSD type 1 (cortisone\rightarrowcortisol), PAI-1</i>	TAv>TAsc
	<i>PPAR-γ</i>	TAv>TAsc
	<i>IL-6 et TNF- induit par LPS</i>	TAv<TAsc
	<i>Adiponectine et Leptine (ARN et protéine)</i>	TAv<TAsc
VOIE LIPOLYTIQUE	<i>Lipases hormono-sensible (protéine et activité)</i>	TAv<TAsc
	<i>Lipolyse basale (libération de glycérol)</i>	TAv<TAsc
	<i>Lipolyse induite par la stimulation des récepteurs β-adrénergiques</i>	TAv>TAsc
	<i>Nombre de récepteur $\beta_{1,2}$-adrénergiques</i>	TAv>TAsc
	<i>Réponse lipolytique induite par les catécholamines</i>	TAv>TAsc
	<i>Anti-lipolyse induite par la stimulation des récepteurs α_2-adrénergiques</i>	TAv<TAsc
	<i>Nombre de récepteur α_2-adrénergiques</i>	TAv<TAsc
	<i>FABP-4</i>	TAv<TAsc
<i>Sécrétion des AGL suite à une stimulation au LPS</i>	TAv<TAsc	
Voies anti-lipolytiques	<i>Action anti-lipolytique de l'insuline</i>	TAv<TAsc
	<i>Substrat du récepteur à l'insuline (IRS-1) (protéine et expression)</i>	TAv<TAsc
	<i>Tyrosine phosphorylation d'IRS-1 par l'insuline</i>	TAv<TAsc
	<i>Activation de la voie PI3-kinase induite par l'insuline</i>	TAv<TAsc
Lipogènes, captage du glucose et des AG	<i>Lipoprotéine lipase</i>	TAv<TAsc
	<i>Captage des AG par les adipocytes et pré adipocytes</i>	TAv<TAsc
	<i>Récepteur aux œstrogènes</i>	TAv<TAsc

D'après Fialho et al., 2016; Harman-Boehm et al., 2007; Lafontan, 2013; Schäffler et al., 2005; Vatier et al., 2012. 11 β -HSD : 11 β -Hydroxystéroïde déshydrogénase 1 ; AGL: Acide gras libre ; CD: Cluster Differentiation ; FABP-4: FABP4 fatty acid binding protein 4 ; IL: Interleukin ; IRS-1: Insulin receptor substrate 1 ; LPS: Lipopolysaccharide ; PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor 1 ; PPAR- γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ; TAsc : Tissu adipeux sous-cutané ; TAv : Tissu adipeux viscéral; TNF- α : Tumor Necrosis Factor α ; VEGF: Vascular endothelial growth factor.

Plus récemment il a été découvert un intermédiaire entre le tissu adipeux blanc et le tissu adipeux brun, soit le tissu adipeux beige (Wu et al., 2012). Ce dernier ne dérive pas du même précurseur, myogenic factor 5 (Myf5), que le tissu adipeux brun, mais possède des caractéristiques similaires (Tableau 2). Le brunissement du tissu adipeux, principalement observé dans le tissu adipeux sous-cutané (Vitali et al., 2012), est sous l'influence de certains facteurs comme l'irisine, les peptides natirurétiques, Fibroblast growth factor 21 (FGF21) et IL-6 (Harms et Seale, 2013; Sanchez-Delgado et al., 2015). Bien que l'effet thermogénique du tissu adipeux beige soit réversible (Rosenwald et al., 2013), des travaux ont ciblé la modulation de ce tissu, via l'activité physique par exemple, comme visée thérapeutique dans l'obésité (Aldiss et al., 2017; Sanchez-Delgado et al., 2015; Tsiloulis et al., 2017).

1.1.2 Mécanismes de stockage des graisses : la lipogénèse

Dans le tissu adipeux blanc, un excédent d'énergie est stocké sous forme de triglycérides (TG) constituant les gouttelettes lipidiques. L'ensemble des réactions chimiques aboutissant à la synthèse des graisses à partir de nutriments (acides gras et glucides) définit la lipogénèse. La lipogénèse est sous le contrôle de plusieurs hormones comme l'insuline qui la stimule ou au contraire le glucagon, l'hormone de croissance et les catécholamines qui l'inhibent. La première étape est initiée à partir des TG alimentaires et hépatiques, transportés dans la circulation via les lipoprotéines, soit les chylomicrons et les lipoprotéines de très faibles densités. Au contact du tissu adipeux, la LPL, une enzyme sécrétée par l'adipocyte, est exportée du côté luminal de l'endothélium capillaire et hydrolyse ces TG pour donner un acide gras (AG) et 2 monoglycérides. Ensuite, l'absorption des AG au niveau du tissu adipeux s'effectue par un système de transport saturable mobilisant des protéines transmembranaires (FATP ; « fatty-acid transport proteins » et FAT/CD36 ; « fatty-acid translocase ») et une protéine associée à la membrane (FABPm ; plasma membrane-associated fatty-acid binding protein). Les AG seront transformés en Acyl-CoA via l'acyl-CoA synthase puis ré-estérifiés en TG suite à une succession d'étapes faisant intervenir le glycérol-3 phosphate, l'acide lysophosphatidique et l'acide phosphatidique (Saponaro et al., 2015).

Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques et fonctions des tissus adipeux brun, blanc et beige.

	<i>TA brun</i>	<i>TA blanc</i>	<i>TA beige "Brown-like"</i>
<i>Localisation</i>	Inter-scapulaire, axillaire, para-vertébrale, et des sites péri-rénaux	Sous-cutané Viscéral	Dans le TA blanc
<i>Morphologie</i>	Multiloculaire, petites gouttelettes lipidiques	Uniloculaire, larges gouttelettes lipidiques	Uniloculaire, large / multiples gouttelettes lipidiques
<i>Fonction mitochondries</i>	Production chaleur	Stockage de l'énergie sous forme de triglycérides	Thermogénèse adaptative sous stimulation
<i>résistance à l'insuline</i>	Négative	Positive	Négative
<i>UCP 1</i>	+++	Presque indétectable	Sous stimulation ++
<i>Vascularisation / capillaires</i>	Abondant	Faible	Angiogenèse sous stimulation
<i>Récepteurs adrénergiques</i>	$\beta 3$ +++	$\beta 3$ ++ (controversé chez l'humain) - $\alpha 2+$	$\beta 3$ - $\alpha 2$?
<i>Obésité</i>	Négative	Positive	Négative
<i>Marqueurs</i>	UCP1, Eva1, Pdk4, Ebf3, Hspb7	LPL, LHS	Tmen26, Tbx1, Cited1, Shox2
<i>Activateurs</i>	Froid, hormones thyroïdiennes, thiazolidinediones, peptides natriurétiques	Alimentation riche en graisses	Froid, thiazolidinediones, peptides natriurétiques, irisine, catécholamines, antagonistes RA β , IL-6

D'après Park et al., 2014. *Cited1*: Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain 1; *Ebf3*: early B-cell factor 3; *Eva1*: Epithelial V-like antigen 1; *Hspb7*: heat shock protein family, member 7; *IL*: Interleukin; *LHS*: Lipase hormono sensible; *LPL*: Lipoprotéine lipase; *Pdk4*: Pyruvate dehydrogenase kinase isoform 4; *RA*: récepteurs adrénergiques; *Shox2*: short stature homeobox2; *Tbx1*: Gène codant pour la protéine T-box protein 1; *Tmen26*: Gène codant pour la protéine transmembranaire 26; *UCP1* : uncoupling protein 1.

En plus des AG circulants, des composés non lipidiques (principalement les glucides dont le glucose et le fructose) peuvent aboutir à la synthèse de graisses dans le tissu adipeux. Cette voie, appelée lipogenèse *de novo*, nécessite le métabolisme du glucose en pyruvate par la voie de la glycolyse. Le pyruvate obtenu sera ensuite transformé en Acetyl-CoA puis en malonyl-CoA. L'acide gras synthase (« fatty acid synthase » ; FAS), l'enzyme limitante de la lipogenèse *de novo* (Ameer et al., 2014) permet la conversion du malonyl-CoA en palmitate. Ce dernier sera converti en acyl CoA avant d'être estérifié par une série de réactions en triglycérides. Il est intéressant de noter que l'expression de l'acide gras synthase est associée à l'augmentation du tissu adipeux viscéral, à la diminution de la sensibilité à l'insuline, à l'augmentation de l'insulinémie à jeun et à IL-6 (Berndt et al., 2007). Toutefois, même si l'homme possède les enzymes clés de la lipogenèse *de novo*, leur expression et activité seraient plus faibles, en particulier au niveau du tissu adipeux, en comparaison avec le rongeur (Letexier et al., 2003).

1.1.3 Mécanismes de mobilisation des graisses : la lipolyse

L'activité lipolytique de l'adipocyte humain est sous le contrôle des voies pro-lipolytiques médiées par les récepteurs β -adrénergiques et les récepteurs des peptides natriurétiques (NPR) puis des voies anti-lipolytiques, dont les principaux protagonistes sont les récepteurs α -adrénergiques et l'insuline via son récepteur (IRS-1 ; « Insulin receptor substrate 1 ») (Figure 1).

La stimulation des récepteurs β -adrénergiques, couplés aux protéines Gs, stimule la production de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) à partir de l'adénylate cyclase. L'AMPC active ensuite la protéine kinase A (PKA). Plus récemment, il a été montré que les peptides natiurétiques (ANP-BNP) en se fixant sur leurs récepteurs membranaires, NPR-A, provoquent une accumulation de guanosine monophosphate cyclique (GMPC), activant la protéine kinase G (PKG). PKA et PKG ainsi activées, elles peuvent alors phosphoryler et activer les enzymes responsables des 3 étapes de l'hydrolyse des triglycérides en acides gras. L'ATGL (« adipose triglyceride lipase ») catalyse la première étape de la lipolyse, consistant à convertir les triglycérides en diglycérides (DG).

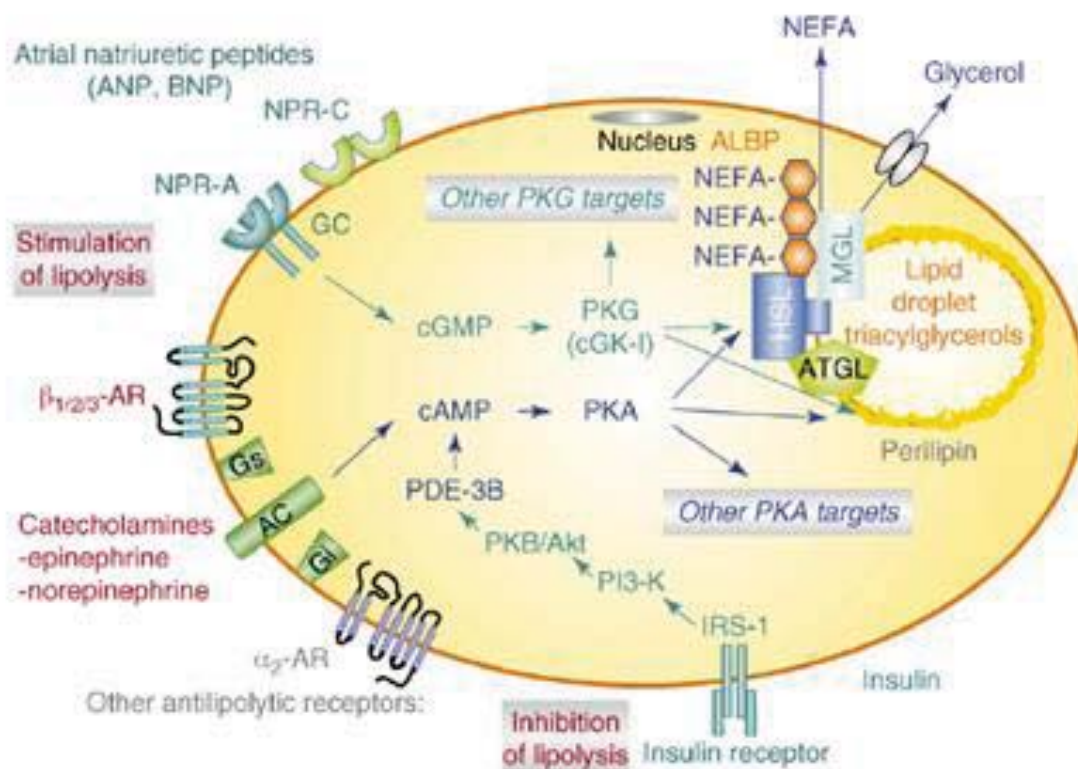


Figure 1 : La lipolyse dans l'adipocyte humain, d'après Lafontan, 2008. α_2 -AR : récepteurs α -adrénergiques ; $\beta_{1/2/3}$ -AR : récepteurs β -adrénergiques ; AC : Adénylate cyclase ; AMPc : Adénosine monophosphate cyclique ; ANP-BNP : peptide natriurétique ; ATGL : Adipose triglycéride lipase ; IRS-1 : récepteur à l'insuline ; LHS : lipase hormono-sensible ; NEFA : (non esterified fatty acids (Acides gras non estérifiés) ; NPR : Récepteurs des peptides natriurétiques ; PK : Protéine kinase.

Cependant, la phosphorylation d'ATGL n'est pas PKA dépendante (Zimmermann et al., 2004). En effet, ATGL nécessite un co-activateur, le GCI-58 (« comparative gene identification-58) récemment renommé l'abhydrolase contenant le domaine 5 (ABHD5). ABHD5 est libérée par la phosphorylation de la perilipine-1 suite à la stimulation β -adrénergique de la PKA. La deuxième étape, l'hydrolyse des DG en monoglycérides, est catalysée par la lipase hormono-sensible (LHS). Contrairement à ATGL la LHS est la cible principale de la PKA. Toutefois, pour une activation optimale, la LHS doit avoir accès à la gouttelette lipidique dont l'accès est modulé par la perilipine-1. La perilipine-1 est phosphorylée simultanément par la LHS et la PKA, permettant ainsi la translocation de la HSL dans la gouttelette lipidique (Wang et al., 2009). Plus de 90 % de l'hydrolyse des TG est médiée par LHS et ATGL (Schweiger et al., 2006). En effet, la phosphorylation et la translocation de

LHS ainsi que l'activation d'ATGL par ABHD5 augmente plus de 100 fois l'hydrolyse des TG dans l'adipocyte (Zechner et al., 2012). Enfin, la troisième et dernière étape, soit l'hydrolyse des monoglycérides est catalysée par la monoglycéride lipase.

En revanche, la lipolyse est freinée via la stimulation des récepteurs α -adrénergiques activant G_i qui inhibe la production d'AMPc ou par l'insuline (Figure 1). L'insuline entraîne une cascade de phosphorylations permettant l'activation de la PI3K puis de la PKB/Akt aboutissant à l'activation la phosphodiesterase de type 3b (PDE-3B) qui provoque la dégradation de l'AMPc. L'insuline peut aussi inhiber la lipolyse par un mécanisme indépendant de l'AMPc. En effet, l'insuline active également la phosphatase-1 entraînant la déphosphorylation et la désactivation de la LHS (Duncan et al., 2007). Il est intéressant de noter que ces deux voies n'ont pas d'effets sur la production de GMPc, induite par la stimulation des peptides natriurétiques.

1.1.4 Localisation du tissu adipeux et implications physiologiques

1.1.4.1 Localisation du tissu adipeux et risques métaboliques

En 1956, Vague fut le premier à décrire ces deux morphotypes ainsi que leurs conséquences sur la santé des sujets (Figure 2). Le morphotype androïde ou « pomme », observé chez les hommes ou les femmes ménopausées, est caractérisé par un dépôt de graisses au niveau abdominal (incluant le tissu adipeux viscéral). L'obésité abdominale (ou centrale) est associée au risque de développement de maladies cardio-vasculaires (MCV) et/ou de diabète de type 2 (DT2) indépendamment de la masse grasse corporelle totale (Kannel et al., 1991; Karelis, 2008; Pouliot et al., 1992; Sam, 2018). Ceci est démontré par la corrélation établie entre le tour de taille, le rapport tour de taille/tour de hanches (TT/TH) et la survenue de ces pathologies (De Koning et al., 2007). Au contraire, le morphotype gynoïde ou « poire », typique à la femme pré-ménopausée, illustré par une accumulation préférentielle des graisses au niveau du tissu adipeux sous-cutané des fessiers et des membres inférieurs, possède un effet protecteur vis-à-vis de ce risque (Bredella, 2017; Vague, 1996; Wajchenberg et al., 2002). Ainsi, il est aujourd'hui reconnu que c'est avant tout la répartition des graisses qui est majoritairement responsable des dysfonctions métaboliques, et non l'excès de masse grasse corporelle totale *per se* (Cornier et al., 2011; Sam, 2018).

I.1.4.2 Dimorphisme de composition corporelle

Le développement de la puberté génère de nombreuses variations hormonales favorisant des spécificités au niveau de la composition corporelle (McCarthy et al., 2013). Ainsi les hormones sexuelles féminines (estrogènes et progestérone) tendent à augmenter la quantité de masse grasse chez la fille alors que chez le garçon la testostérone favorise le développement de la masse maigre. A l'âge adulte, les hommes possèdent en moyenne 15-20% de masse grasse alors que chez les femmes ce pourcentage s'élève à 25-30%. Cette masse adipeuse se distingue en deux composantes : le tissu adipeux sous-cutané et le tissu adipeux viscéral. Comparativement aux hommes, les femmes pré-ménopausées ont moins de tissu adipeux viscéral au niveau abdominal, et plus de tissu adipeux sous-cutané que ce soit au niveau total, abdominal ou glutéal (Palmer and Clegg, 2015) (Figure 2).

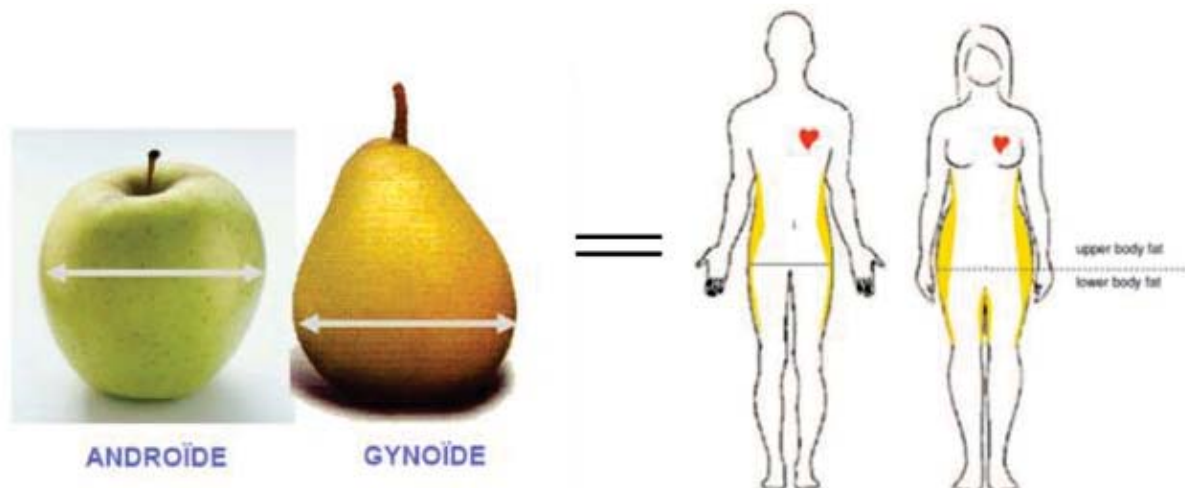


Figure 2 : Le dimorphisme de composition corporelle.

Ce dimorphisme peut en partie être expliqué par des facteurs génétiques. En effet, Karastergiou et al. ont montré un effet du genre sur l'expression de certains gènes associés à la répartition des graisses. Ainsi, l'expression des gènes *HOXA10* et *HOXC13*, tous deux régulés par les estrogènes, et l'expression de *HOXB8* est supérieure au niveau glutéal chez la femme tandis que l'expression de *HOXA2* est plus élevée dans le tissu adipeux abdominal de l'homme (Karastergiou et al., 2012). Comparativement aux hommes, on note également une expression majorée de certains gènes comme *HOXA5* et *HOXC8* dans le TA viscéral et de *HOXA10* dans le tissu adipeux sous-cutané chez la femme (Karpe et Pinnick, 2015; White et Tchoukalova, 2014).

Cette répartition des graisses, spécifique au sexe, reflète également un métabolisme énergétique différent (Woods et al., 2003).

1.1.5 Méthodes d'évaluation du tissu adipeux

Afin de mesurer la masse grasse corporelle totale, plusieurs méthodes ayant chacune leurs avantages et leurs inconvénients sont disponibles (Tableau 3). L'absorptiométrie biphotonique à rayons X (« Dual-energy X-ray absorptiometry »; DXA) a néanmoins été définie comme étant la méthode de référence (Lemos et Gallagher, 2017). Concernant la masse grasse abdominale, la tomodensitométrie (« computerized tomography scan » ; CT-scan) ou l'imagerie à résonance magnétique (MRI), apparaissent plus performante que le DXA. Même si le DXA peut à présent estimer la MG viscérale, la mesure obtenue n'est pas aussi pertinente que celle du CT-scan (Shuster et al., 2012)

1.2 Implication du tissu adipeux viscéral dans les pathologies inflammatoires chroniques

1.2.1 Obésité

1.2.1.1.1 Généralités sur l'obésité

L'obésité est définie comme un excès de masse grasse qui entraîne des conséquences néfastes pour la santé (OMS). La prévalence de cette pathologie ne cesse d'augmenter. En effet, 2014, on comptait 1,9 milliard de personnes en surpoids dont 600 millions d'obèses dans les pays développés et en voie de développement (Organization WH). Ainsi, aujourd'hui, cette pathologie est reconnue comme étant un problème majeur de santé publique. Un déséquilibre entre la prise alimentaire et les dépenses énergétiques est directement à l'origine de la prise de masse grasse. Toutefois, différents facteurs peuvent intervenir comme la génétique et/ou l'épigénétique, le statut hormonal, et le microbiote intestinal. D'un point de vue clinique l'indice de masse corporel permet de classifier les différents stades de l'obésité (Tableau 4).

Tableau 3 : Comparaison des différentes méthodes d'évaluation de la masse grasse totale.

méthode	principe	+	-	Précision : % Erreur
Hydrodensitométrie	<ul style="list-style-type: none"> > Ancienne méthode de référence > Modèle à deux compartiments > Principe d'Archimède (Densité = Masse/Volume) > Mesurer un volume en l'immergeant dans l'eau > Equation de Siri : % MG = 100 (4,95/D-4,50) 	<ul style="list-style-type: none"> > Précision 	<ul style="list-style-type: none"> > Coopération des sujets > Non adapté pour les enfants, personnes à mobilité réduite > Coût 	+/-2,7%
Pléthysmographie	<ul style="list-style-type: none"> > Ancienne méthode de référence > Modèle à deux compartiments > Loi de Boyle-Mariote > La pression de la cabine est modifiée en proportion du volume introduit 	<ul style="list-style-type: none"> > Précision > Rapidité = 5 min 	<ul style="list-style-type: none"> > Coût 	2,2 à 3,7%
Méthode des plis cutanés	<ul style="list-style-type: none"> > Somme des 4 plis : pli bicipital, tricipital, sous-scapulaire et supra-iliaque > 3 mesures puis on sélectionne la moyenne > Hypothèse : MG sous cutané = proportion constante MG totale > Equations prédictives (âge et sexe) 	<ul style="list-style-type: none"> > Coût > Simple 	<ul style="list-style-type: none"> > Reproductibilité > Sous-estime l'obésité gynoïde > Sous-estimer la MG viscérale > Non adapté pour les obésités sévères 	+/- 3,5% selon les équations
Impédance	<ul style="list-style-type: none"> > Capacité des tissus hydratés à conduire l'énergie électrique > C'est une mesure de la résistance au passage du courant électrique > Courant de 800 µAmp avec une fréquence de 50 kHz > L'impédance (Z) d'un corps est liée à la résistance spécifique (r), la longueur (L) et le volume conducteur (V) > $V = r L^2/Z$ 	<ul style="list-style-type: none"> > Coût > Simple > Indolore 	<ul style="list-style-type: none"> > Equations imprécises > Non adapté pour les personnes ayant un pace-maker, et femmes enceintes > Fonction du volume d'eau (œdèmes, traitement diurétique) 	+/- 5%
DXA	<ul style="list-style-type: none"> > La méthode de référence pour analyser la composition corporelle > Balayer l'ensemble du corps avec un faisceau de rayons X à deux niveaux d'énergie > Le rapport des atténuations de ces deux rayonnements est fonction de la composition de la matière traversée 	<ul style="list-style-type: none"> > Précision > Rapidité > Segmenter les parties du corps : bras, jambes, tronc, partie abdominale 	<ul style="list-style-type: none"> > Coût > Non adapté pour les obésités sévères (poids > 200 kg) et femmes enceintes > Difficile pour les personnes à mobilité réduite 	+/- 1,8%
CT-scan, MRI	<ul style="list-style-type: none"> > Absorption du rayonnement par les différentes parties du corps en fonction de leur composition 	<ul style="list-style-type: none"> > Précision > Rapidité > Calcul des surfaces des TA superficiels et profonds 	<ul style="list-style-type: none"> > Coût > Non adapté pour les femmes enceintes 	Très faible

CT-scan: computerized tomography scan; DXA: Dual-energy X-ray absorptiometry; MG : masse grasse; MRI: imagerie à résonance magnétique : TA : tissu adipeux.

Tableau 4 : Classification du statut pondéral selon l'indice de masse corporel.

<i>IMC (kg/m²)</i>	<i>Interprétation (selon l'OMS)</i>
< 16	Anorexie ou dénutrition
16.5 et 18.5	Maigreur
18.5 et 25	Corpulence normale
25 et 30	Surpoids
30 et 35	Obésité modérée (Classe 1)
35 et 40	Obésité élevée (Classe 2)
> 40	Obésité morbide ou massive

IMC : Indice de masse corporel ; OMS : Organisation mondiale de la santé.

Cependant, cet indicateur est maintenant obsolète, puis qu'il est actuellement reconnu, que la masse grasse, plus particulièrement sa localisation conditionne les dysfonctionnements physiologiques.

I.2.1.2 Tissu adipeux viscéral et obésité

L'expansion du tissu adipeux peut induire une hypoxie, la mort des adipocytes, l'augmentation de la sécrétion de chimiokines et la dysrégulation du flux d'AGL entraînant la mise en place d'une inflammation chronique et/ou de dysfonctions métaboliques.

1.2.1.2.1 Aspects inflammatoires du tissu adipeux viscéral dans un contexte d'obésité

Quand l'hypertrophie du tissu adipeux devient trop importante, les vaisseaux sanguins deviennent insuffisants, ce qui entraîne une hypoxie du tissu adipeux. Cette hypoxie est responsable de la sécrétion de HIF1- α (« hypoxia-inducible factor 1 »), favorisant l'inflammation du tissu adipeux (Halberg et al., 2009; Lee et al., 2014), ainsi que HIF2- α étant quant à lui impliqué dans l'angiogenèse (García-Martín et al., 2015). De plus, cette hypoxie peut également participer à la nécrose du tissu adipeux (Patel et al., 2013). Il a ainsi été mis en évidence une augmentation de fréquence de la mort des adipocytes chez les obèses et chez des souris non obèses mais ayant des adipocytes hypertrophiés (Cinti et al., 2005). Les adipocytes « morts » provoquent le recrutement des macrophages autour d'eux, ce qui forme une « crown-like structure ; CLS » (Figure 3). Plus de 90% des macrophages du tissu adipeux d'obèses sont localisés à proximité de ces sites (Cinti et al., 2005). Les macrophages activés

secrètent des cytokines et chimiokines qui en retour augmentent le recrutement de monocytes et d'autres leucocytes dans le tissu adipeux. Ainsi la forte prévalence de CLS est considérée comme illustrant des lésions pathologiques chez des sujets obèses, fortement corrélée à l'inflammation du tissu adipeux et des désordres métaboliques (Aouadi et al., 2013). Ces différents mécanismes sont responsables d'une véritable boucle d'amplification de l'inflammation entraînant ainsi la chronicité la pathologie. Il est intéressant de noter, que l'infiltration des macrophages et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires sont plus élevées dans le tissu adipeux viscéral que le tissu adipeux sous-cutané (Tableau 1), ce qui met une fois de plus en avant la nocivité de ce tissu.

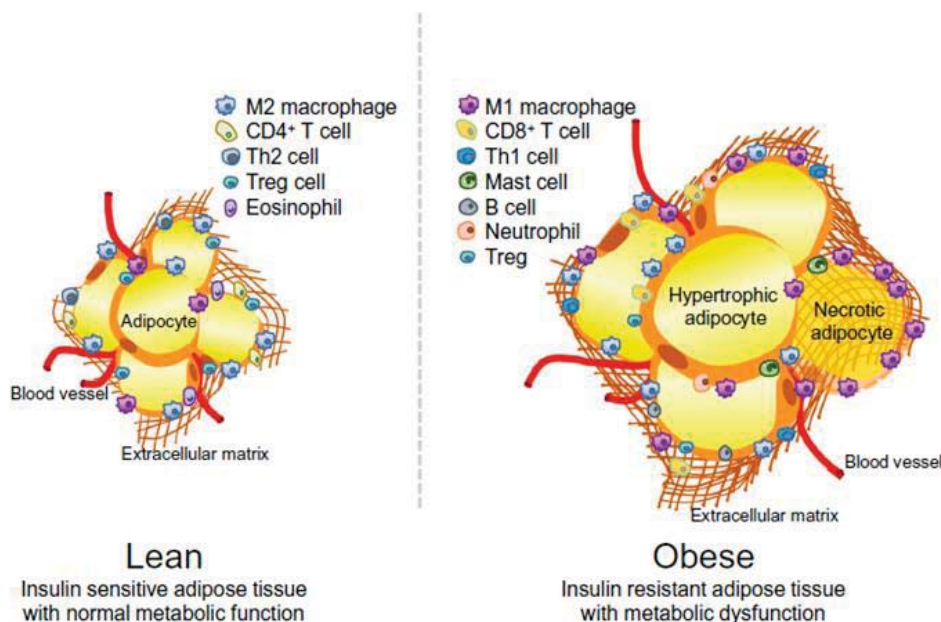


Figure 3 : Différentes caractéristiques entre le tissu adipeux de sujet minces et obèses, d'après Kumari et al., 2018. Le tissu adipeux de sujets mince possède un profil anti-inflammatoire via la présence de cellules telles que Th2 ou des macrophages M2 à l'opposé du tissu adipeux de sujets obèses étant caractérisé par la présence de macrophage M1 autour de zones nécrosées.

1.2.1.2.2 Aspects métaboliques du tissu adipeux viscéral dans un contexte d'obésité

Une fois que le seuil de stockage du tissu adipeux blanc est dépassé, le surplus d'énergie est stocké sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux viscéral (Isakson et al., 2009). Ce tissu adipeux étant le plus actif métaboliquement, il est le siège d'une lipolyse accrue. La forte sécrétion d'AGL qui en résulte a pour conséquence un dépôt ectopique de graisses au niveau du foie, du cœur et du muscle. L'incapacité à utiliser ces AGL contribue aux altérations métaboliques. Pour exemple, une grande quantité de lipides intramyocellulaires

(IMCL) est associée à une insulino-résistance (Samuel et Shulman, 2012). En effet, l'accumulation de diacylglycérol, d'acyl-CoA à longues chaînes et de céramides altèrent la voie de l'insuline. Ces composés activent la protéine kinase B qui phosphoryle le site sérine/thréonine de IRS-1. La translocation des transporteurs de glucose (GLUT 4) devient défectueuse participant alors à une consommation limitée de glucose par le muscle. En parallèle, le tissu adipeux viscéral étant très vascularisé, les AGL sont apportés directement par la veine porte au foie (Cornier et al., 2011; Nielsen et al., 2004). Les lipides intrahépatiques (IKL) provoquent une diminution de l'extraction et une dégradation de l'insuline couplée à une production accrue de glucose ainsi qu'une hypertriglycémie (Cornier et al., 2011). Les IMCL et IKL participent ainsi à l'installation de désordres métaboliques comme le syndrome métabolique ou le DT2. Le syndrome métabolique désigne la coexistence chez un même individu d'au moins trois des troubles suivant : l'hyperinsulinémie, hypercholestérolémie, hypertension, hyperglycémie et l'obésité abdominale. L'ensemble de ces désordres métaboliques augmente considérablement le risque de DT2. Le DT2, caractérisé par une résistance à l'insuline, est la forme de diabète la plus répandue représentant ainsi, selon l'OMS, 85 à 95% des diabétiques. Il est intéressant de noter, que le développement du DT2 est corrélé à l'augmentation rapide de la fréquence du surpoids et/ou de l'obésité, au temps de sédentarité et à l'inactivité physique. Plusieurs études ont mis en évidence une corrélation entre le tissu adipeux viscéral et l'apparition du syndrome métabolique (Després et Lemieux, 2006; Wajchenberg, 2000). De plus, Ross et al. ont observé une corrélation entre le tissu adipeux viscéral et l'insulino-résistance indépendamment de la condition physique (VO_{2pic}), de la composition du muscle (densité musculaire, atténuation musculaire et présence de tissu adipeux) et du tissu adipeux sous-cutané (membres inférieurs et abdominal) (Ross et al., 2002). Cependant ces AGL peuvent aussi se fixer sur les récepteurs TLR-4 (« TLR: Toll-like receptor-4 ») activant ainsi la voie de signalisation NF-Kb (« Nuclear factor-kappa B ») favorisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Rocha et al., 2016). Cette activation participe également au switch phénotypique des macrophages du tissu adipeux, soit une augmentation des macrophages M1 pro-inflammatoires (IL-6, IL-1 β , IL-12, IL-23 et TNF- α) couplé à une réduction des macrophages M2 anti-inflammatoires (Quero et al., 2017). Les voies de signalisation inflammatoires et métaboliques sont ainsi étroitement interconnectées.

1.2.2 Maladie de Crohn

1.2.2.1 Généralités concernant la maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin, évoluant par poussées entrecoupées de périodes de rémission clinique, affectant principalement l'iléon terminal, le côlon et l'anus. Elle est caractérisée par un dysfonctionnement du système immunitaire sous l'influence de facteurs environnementaux chez des individus génétiquement prédisposés (Baumgart et Sandborn, 2007). Atteignant préférentiellement les femmes, la MC peut survenir à tous âges, le pic de fréquence étant toutefois situé entre 20 et 30 ans. L'apparition de diarrhées, douleurs abdominales, fièvres associés à une perte de poids (en raison d'une malnutrition et/ou malabsorption et/ou catabolisme élevé), en sont les principaux symptômes cliniques (Shanahan 2012). La prévalence de la MC ne cesse d'augmenter, touchant actuellement 150 000 sujets en France (Molodecky et al., 2012). L'incidence de la MC pour les pays occidentaux est évaluée entre 6 et 15 pour 100 000 habitants (Vegh et al., 2017). Toutefois, cette incidence peut varier selon les régions du monde puisqu'il a été décrit un gradient d'incidence Nord-Sud en Europe, un gradient Sud-Nord en Chine et un gradient Est-Ouest au Canada (Ng et al., 2018). A l'heure actuelle, il n'existe que des traitements symptomatiques visant à prévenir des complications et/ou bloquer la progression de la maladie (Torres et al., 2017).

1.2.2.2 Maladie de Crohn et tissu adipeux viscéral

Bien que généralement les patients atteints de la MC aient un indice de masse corporel (IMC) faible ou normal, leur rapport de tissu adipeux viscéral/tissu adipeux sous-cutané est élevé (Desreumaux et al., 1999; Yadav et al., 2017). De plus, le tissu adipeux viscéral est un meilleur prédicteur du risque d'iléocoliectomie que l'IMC (Connelly et al., 2014) et est associé à une augmentation des complications post-opératoires à 30 jours (Ding et al., 2016).

La présence importante de graisse au niveau de l'intestin a été décrite par Crohn en 1932 (Crohn et al., 2000). Cette expansion du tissu adipeux viscéral mésentérique, dont les dépôts ectopiques sont nommés en anglais « creeping fat ; CF » ou « wrapping fat », peut recouvrir jusqu'à 50% du diamètre de l'intestin grêle et colon (Drouet et al., 2012). Ce tissu adipeux est associé à inflammation transmurale, la fibrose, l'hypertrophie musculaire et la formation de sténoses (Fink et al., 2012; Peyrin-Biroulet et al., 2007). De plus lors d'une résection intestinale, si le CF est enlevée, le risque de survenue d'une seconde opération passe

de 27% à 2,7 % (Coffey et O'Leary, 2016). Aujourd'hui, ce tissu adipeux est reconnu comme étant une des caractéristiques de la pathologie (Serena et al., 2017).

1.2.2.2.1 Caractéristiques du « creeping fat »

Les études histologiques de ce tissu adipeux ont montré en comparaison à des sujets sains une réduction de 75% de la taille des adipocytes mais un nombre quatre fois plus important traduisant un développement par hyperplasie (Peyrin-Biroulet et al., 2007).

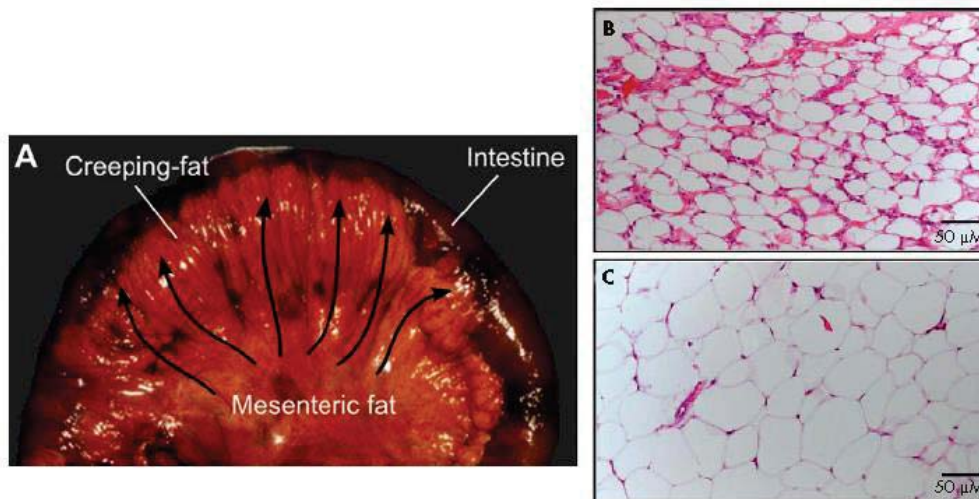


Figure 4 : Illustration du tissu adipeux mésentérique à différents niveaux, aspect macroscopique du « creeping-fat » (A). Coupe histologique colorée au Hématéine-Eosine-Safran (HES) montrant un nombre plus important d'adipocytes (150 vs 80 cellules/coupe) mais de plus petite taille (50 vs 80 µm) chez des patients atteints de la MC (B) par rapport à des sujets sains (C). (Drouet et al., 2012; Peyrin-Biroulet et al., 2007).

Le CF est un véritable producteur de médiateurs ayant un rôle dans l'inflammation, tels que la leptine, l'adiponectine, la résistine, des chémokines (MCP-1) et cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- α etc.), participant alors à l'inflammation systémique et intestinale (Batra et al., 2012; Paul et al., 2006). On notera également une infiltration marquée de cellules T et de macrophages ainsi que la présence de fibrose.

Toutefois, le CF se distingue du tissu adipeux de personnes obèses de par son développement par hyperplasie et surtout via l'absence d'association avec l'IMC et l'insulino-résistance (Tableau 5). La sécrétion d'adiponectine est quant à elle toujours controversée (pour revue, Gonçalves et al., 2015).

1.2.2.2 Mécanismes impliqués dans le développement du tissu adipeux mésentérique (« creeping fat »)

La dysbiose observée chez les patients atteints de la MC est impliquée dans l'augmentation de la perméabilité intestinale ce qui favorise la translocation bactérienne. La présence de bactéries dans le tissu adipeux mésentérique pourrait ainsi être responsable de son expansion (Gummesson et al., 2011; Kredel et Siegmund, 2014; Paeschke et al., 2017). En effet, par rapport à des sujets sains, il a été montré une translocation de bactéries chez 27% de sujets atteints de la MC contre 13% chez les sujets contrôles (Peyrin-Biroulet et al., 2012). Dans ce contexte, Amar et al. ont administré la souche *Escherichia coli* résistante à l'ampicilline marquée par un fluorochrome à des souris après un régime riche en graisses. Il a ainsi été observé une présence de ces bactéries dans le tissu adipeux mésentérique dès la première semaine (Amar et al., 2011). L'étude réalisée par Zulian et al. renforce les données précédentes, via la mise en évidence de la présence de *Enterococcus faecalis* dans le TA mésentérique de patients de la MC. De plus, *in vitro*, *Enterococcus faecalis* est capable d'induire la prolifération des adipocytes ainsi que de diminuer leur contenu en lipides de 20% (Zulian et al., 2013).

Tableau 5 : Comparaison des caractéristiques du tissu adipeux viscéral entre des sujets obèses et atteints de la maladie Crohn, d'après Fink et al., 2012; Kredel et al., 2014.

	Obésité centrale	MC
↑ Adipocytes	Hypertrophie	Hyperplasie
↑ IMC	Associé	Non associé
Dyslipidémie	Associé	Non associé
Résistance à l'insuline	Associé	Non associé
CRP	↑	↑
TNF- α	↑	↑
IL-8	↑	↑
IL-6	↑	↑
Leptine	↑	↑
Adiponectine	↓	?

CRP : C-reactive protein; IL: Interleukin ; IMC : Indice de masse corporel, MC : maladie de Crohn, TNF- α : Tumor Necrosis Factor α .

La présence de bactéries dans le tissu adipeux peut également stimuler PPAR- γ (« peroxisome proliferator-activated receptor gamma »), ce dernier étant fortement impliqué dans la régulation de l'adipogénèse. Chez les patients atteints de la MC, PPAR- γ est surexprimé dans le tissu adipeux mésentérique (et non dans le tissu adipeux sous-cutané). La modulation de PPAR- γ pourrait contribuer à l'hyperplasie du tissu adipeux mésentérique chez ces patients (pour revue, Peyrin-Biroulet et al., 2007).

Les adipocytes peuvent changer de phénotype et se convertir en cellules appartenant à la fraction du stroma vasculaire (*i.e.* macrophages, fibroblastes *etc.*) (Charrière et al., 2003; Cinti, 2012). Les macrophages sont en partie responsables de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par le tissu adipeux, couplées avec les autres facteurs qui caractérisent le tissu adipeux mésentérique (Tableau 5), ils participent directement à l'inflammation systémique et intestinale. Les adipocytes expriment également des récepteurs de reconnaissance tels que les TLR et NOD (« Nucleotide-binding oligomerization domain »), pouvant une fois activés par les bactéries et/ou leurs composants induire une inflammation (Batra et al., 2012). L'adipocyte est alors considéré comme un organe immuno-régulateur. Cet état inflammatoire participe à l'expansion du tissu adipeux (Peyrin-Biroulet et al., 2007), via le facteur M-CSF (« macrophage colony-stimulating factor ») sécrété par les macrophages en plus grande proportion chez les patients atteints de MC (Klebl et al., 2001; Levine et al., 1998; Paul et al., 2006) ou TNF- α par exemple (Zubkova et al., 2016), ainsi qu'à l'altération des jonctions serrées (Le Dréan et al., 2014). Ainsi, l'expansion du tissu adipeux mésentérique entretient l'inflammation, qui elle-même favorise l'accroissement du tissu adipeux provoquant de ce fait un véritable cercle vicieux (Figure 5). En outre de la prolifération du tissu adipeux et de l'entretien de l'inflammation, la présence de bactéries à ce niveau peut former un « réservoir » de bactéries empêchant leur accès aux antibiotiques et ainsi réduire l'efficacité des traitements thérapeutiques (Khan et al., 2011).

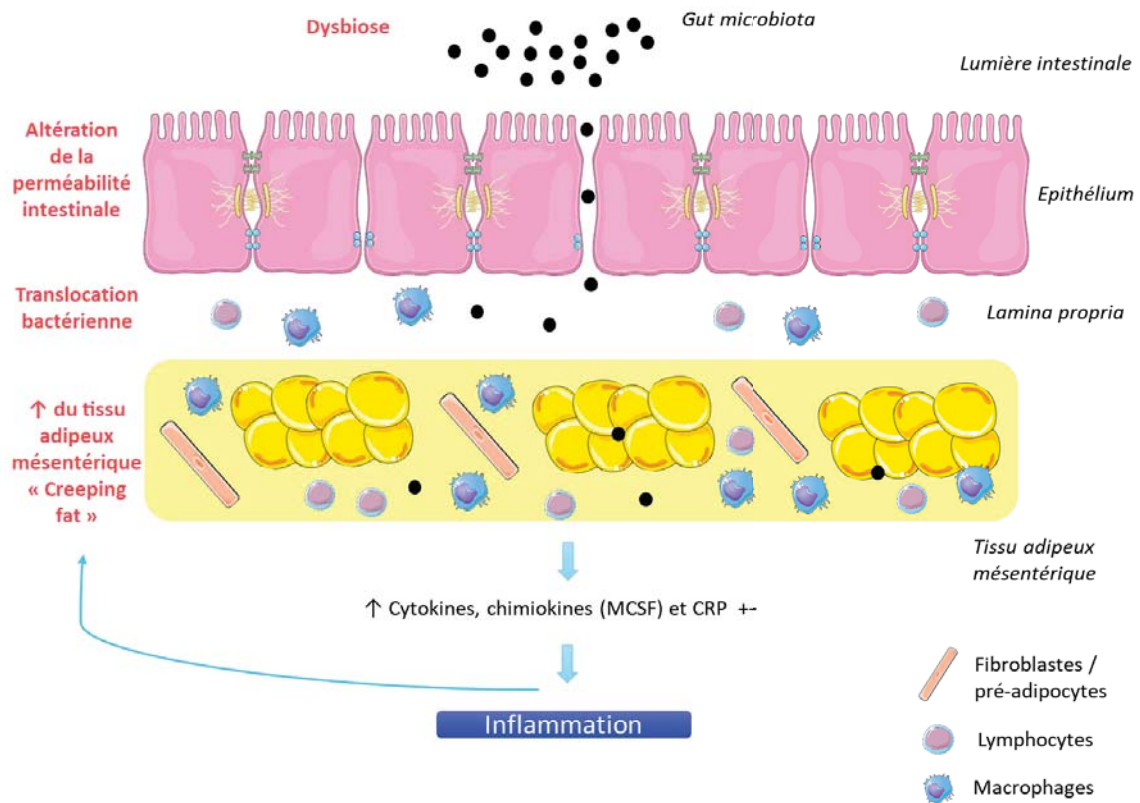


Figure 5 : Boucle d'amplification de l'inflammation provoquée par le tissu adipeux mésentérique, d'après Kruis et al., 2014.

MESSAGES A RETENIR - PARTIE I

- ✓ Il existe plusieurs types de tissus adipeux : le tissu adipeux blanc, beige et brun.
- ✓ Parmi le tissu adipeux blanc, on distingue le tissu adipeux sous-cutané et viscéral.
- ✓ Le tissu adipeux sous-cutané, majoritairement localisé au niveau inférieur du corps, est principalement impliqué dans le stockage du surplus d'énergie.
- ✓ Le tissu adipeux viscéral, localisé au niveau abdominal (entre les viscères), est le plus nocif en raison d'une grande activité métabolique (sécrétion d'acides gras libres, cytokines pro-inflammatoires).
- ✓ La répartition des graisses est plus importante qu'un excès de tissu adipeux en soit.
- ✓ Dans un contexte d'obésité, le tissu adipeux viscéral est associé au risque de développer des maladies cardio-vasculaires ainsi qu'à l'inflammation chronique.
- ✓ Le tissu adipeux viscéral est également présent chez les patients atteints de la maladie de Crohn (MC), dans ce contexte il est nommé « creeping-fat ; CF ».
- ✓ Le CF est une caractéristique de la MC et est également associé à l'inflammation ainsi qu'aux rechutes post-opératoires.
- ✓ La méthode de référence pour quantifier la totalité du tissu adipeux est l'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA).
- ✓ La méthode de référence pour quantifier la masse grasse abdominale dont viscérale est la tomodensitométrie (CT-scan).

II Implication du microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques

II.1 Le microbiote intestinal

II.1.1 Généralités concernant le microbiote intestinal

L'intestin héberge un ensemble de micro-organismes vivants appelés microbiote intestinal ou anciennement flore intestinale. Le microbiote intestinal est constitué de bactéries, mais on note la présence de virus, d'archées et de champignons (Hollister et al., 2014). L'intestin humain contient environ 10^{14} bactéries, représentant approximativement dix fois le nombre total de cellules du corps humain, incluant au moins 3500 espèces différentes avec plus de 3 millions de gènes (Fujimura et al., 2010; Le Chatelier et al., 2013; Li et al., 2014; Qin et al., 2010). Chez l'enfant, la composition du microbiote intestinal se stabilise au cours de la troisième année de vie pour atteindre 1,5 à 2kg à l'âge adulte. Tout au long de la vie, le microbiote d'un individu varie peu, en raison de sa résilience, toutefois de grandes variabilités inter-individus sont à noter. Néanmoins, la proportion des différents *phyla* reste similaire entre les sujets puisque 80-90% des bactéries appartiennent soit au phylum *Bacteroidetes* ou *Firmicutes*. *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ou *Verrucomicrobia* sont d'autres *phyla* couramment observés mais en moindre proportion (Eckburg et al., 2005; Jandhyala et al., 2015). Le microbiote intestinal est présent tout au long du tractus digestif, mais la plus grande proportion est localisée au niveau du colon (10^{11} UFC/mL de contenu et comprenant plus de 1000 espèces). Cette répartition peut être expliquée par le ralentissement de la vitesse de déplacement du contenu intestinal, la neutralité du pH, l'anaérobiose ainsi que la faible concentration en acide biliaire (Figure 6).

II.1.2 Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal, en symbiose avec l'hôte, exerce de nombreuses fonctions bénéfiques. Il est souvent défini comme étant « l'organe oublié » (O'Hara et Shanahan, 2006).

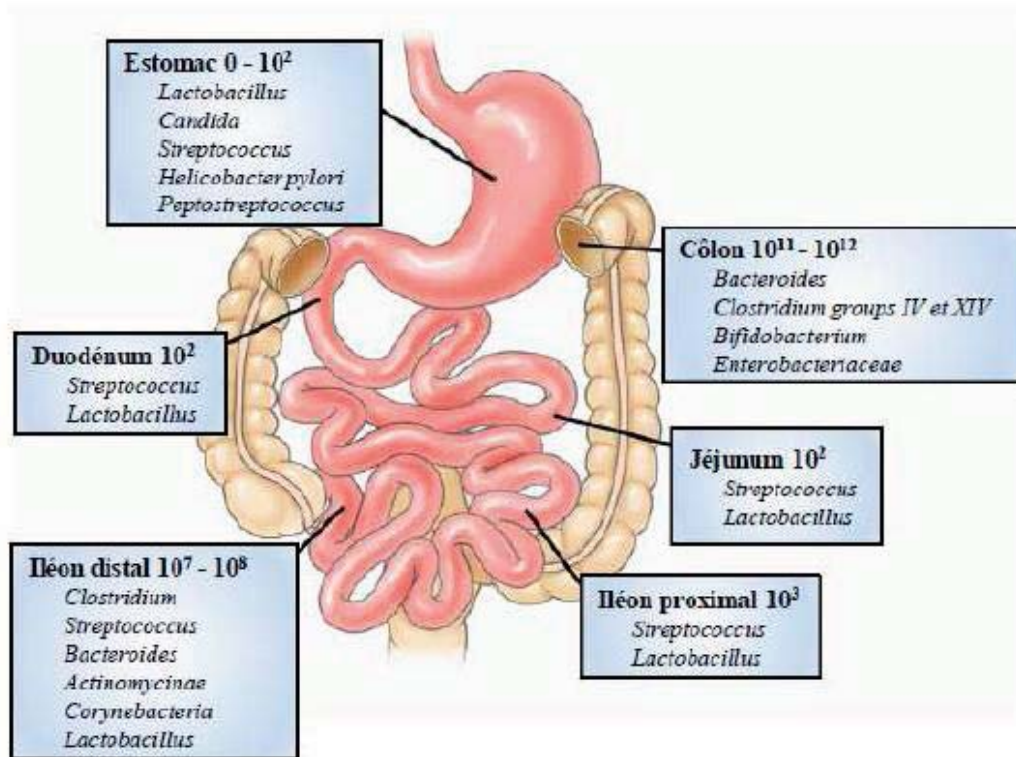


Figure 6 : Diversité et densité des espèces microbiennes dominantes dans les différentes régions du tractus gastro-intestinal, Les valeurs correspondent aux UFC/g de contenu luminal (modifiée d'après Sartor, 2008).

II.1.2.1 Fonction immunitaire

Le microbiote intestinal permet la maturation du système immunitaire. En effet, chez les souris axéniques il a été observé quelques anomalies comme une hypoplasie des plaques de Peyer, une diminution des lymphocytes intra-épithéliaux, une moindre couche de mucus, un déficit en certaines populations de lymphocyte T (LT), une diminution de la sécrétion d'IgA ainsi qu'une atrophie de la rate et des ganglions lymphatiques (Johansson et al., 2008; Macpherson et Harris, 2004).

Afin de maintenir l'homéostasie intestinale, une tolérance vis-à-vis des pathogènes exogènes est nécessaire. Cet équilibre est sous la dépendance de LT effecteurs (Th17) et régulateurs (Treg) pouvant être contrôlés par les bactéries (Atarashi et al., 2011; Smith et al., 2013).

II.1.2.2 Fonction de protection

La fonction principale de l'épithélium intestinal est de former une barrière et de protéger le tube digestif de l'environnement extérieur. Le microbiote intestinal participe activement à l'intégrité de cette barrière. Il produit des peptides microbiens ainsi que des IgA permettant de restreindre l'accès à l'épithélium intestinal aux pathogènes. De plus, les produits issus de la fermentation bactérienne, les acides gras à chaîne courtes (AGCC), participent au renforcement des jonctions serrées empêchant ainsi le passage de bactéries et/ou composés à travers la membrane vers la circulation (Matheus et al., 2017; Wang et al., 2012).

II.1.2.3 Fonction métaboliques

II.1.2.3.1 *Production de vitamines*

La majorité de la vitamine K est produite par les bactéries intestinales notamment les bactéries lactiques comme *Lactococcus lactis*, *Brevibacterium linens* et *Leuconostoc lactis* (Walther et al., 2013). La vitamine K joue un rôle essentiel dans la coagulation sanguine. Plus récemment, des études épidémiologiques ont suggéré une association entre cette vitamine et plusieurs maladies gériatriques ainsi que l'ostéoporose (Azuma et al., 2014; Fusaro et al., 2017). Les bactéries telles que *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri* JCM1112 peuvent également produire des vitamines du groupe B, qui seront utilisés dans le métabolisme énergétique de l'hôte (LeBlanc et al., 2017).

II.1.2.3.2 *Implication dans le métabolisme des glucides*

Selon les individus, 10 à 60g de glucides fermentescibles parviennent au colon chaque jour. Les bactéries fibrolytiques (*Bacteroidetes*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Roseburia*) fabriquent des enzymes permettant l'hydrolyse des polymères en fragments plus petits (par exemple : oligosides, oses). Ces fragments d'hydrolyse permettront la production d'AGCC, principaux produits du métabolisme des glucides, et de gaz (CO₂, H₂, SO₄). Les bactéries glycolytiques peuvent également produire des AGCC via le pyruvate obtenu lors de la glycolyse.

II.1.2.3.3 *Implication dans le métabolisme des lipides*

Les lipides non absorbés par l'intestin grêle, issus de la desquamation des colonocytes ainsi que les lipides bactériens seront dégradés. Par exemple, le cholestérol colique est converti en coprostanol et sera éliminé dans les fèces (Lichtenstein, 1990). Une minorité des

acides biliaires (5%) échappent au cycle entero-hépatique et atteignent le colon. A ce niveau, ils seront transformés par des bactéries (*Bacteroidetes*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*) en acides biliaires secondaires.

II.1.2.3.4 Implication dans le métabolisme des protéines

Les bactéries protéolytiques (*Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*) participent à la production d'acides aminés. La fermentation de ces acides aminés permet la formation d'AGCC via des réactions d'oxydation et de réduction. Il est également produit des composés pouvant être toxiques comme des AGCC ramifiés (isobutyrate, 2-méthylbutyrate et isovalérate), des phénols, de l'indole et de l'ammoniac (Windey et al., 2012).

II.2 Microbiote, maladies inflammatoires et tissu adipeux

II.2.1 Dysbiose

II.2.1.1 Implication du microbiote intestinal dans la maladie de Crohn

La MC résulterait d'une réponse immunitaire aberrante en réponse à une stimulation par le microbiote intestinal chez des individus génétiquement prédisposés et/ou sous l'influence de facteurs environnementaux (Baumgart et Sandborn, 2007). Le maintien de l'homéostasie est responsable de l'identification/différenciation des stimuli pathogènes de ceux qui ne le sont pas ce qui permet d'apporter une réponse appropriée. Cet équilibre est appelé tolérance. Une rupture de cette tolérance peut alors entraîner une réaction inflammatoire excessive et non contrôlée, aboutissant à l'apparition d'une MC. De ce fait, il a été admis que la MC serait déclenchée par une réaction immunitaire anormale du microbiote intestinal chez des personnes génétiquement prédisposées (Imhann et al., 2018; Knights et al., 2013). La balance de l'écosystème du microbiote intestinal peut-être dérégulée par de nombreux facteurs environnementaux (l'alimentation, le manque d'activité physique, la sédentarité, la prise de médicaments etc.). Quelle que soit la cause de cette perturbation microbienne, les patients atteints de la MC sont caractérisés par une diminution de l' α -diversité (Hansen et al., 2012; Manichanh et al., 2006) ainsi qu'une dysbiose, soit un déséquilibre entre les bactéries pathogènes et bénéfiques. L'analyse du microbiote intestinal chez ces patients a révélé une diminution des *Firmicutes* couplée à une augmentation des *Bacteroidetes* et *Proteobacteria* (Wright et al., 2015). De plus, le microbiote de ces patients

présente une réduction des espèces productrices d'AGCC connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et immunitaires, telles que *Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus torques*, *Clostridium lavalense*, et *Bacteroides uniformis* (Rapozo et al., 2017; Wright et al., 2015). La littérature a mis en avant la diminution *Faecalibacterium prausnitzii* (Cao et al., 2014; Quévrain et al., 2016; Sokol et al., 2008; Takahashi et al., 2016), ainsi que l'augmentation de *Escherichia coli* Adhérent-Invasif (AIEC) (Barnich et al., 2013; Darfeuille-Michaud et al., 2004), faisant de ces deux bactéries une véritable signature du microbiote intestinal chez des patients atteints de MC (Lopez-Siles et al., 2014).

Depuis les 10-15 dernières années, la bactérie la plus suspectée dans l'étiologie de la MC est *Escherichia coli* (Agus et al., 2014). La prévalence du pathogène *Escherichia coli* AIEC est de 36 à 50% chez des patients atteints de MC (Darfeuille-Michaud et al., 2004; Palmela et al., 2018). Ces bactéries dégradent la couche de mucus via la sécrétion d'une enzyme, la mucinase (Gibold et al., 2016). De plus, elles résistent aux peptides antimicrobiens produits par les cryptes intestinales (McPhee et al., 2014). Une fois que les AIEC ont atteint l'épithélium intestinal, elles sont capables d'adhérer aux cellules par différents mécanismes (Figure 7). Ces bactéries peuvent se fixer sur le récepteur CEACAM6 (« Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 »), lui aussi étant présent anormalement à la surface des entérocytes chez 35% des patients atteints de la MC (Barnich et al., 2007). L'utilisation de souris transgéniques CEABAC10, exprimant ce récepteur humain, et colonisées avec la souche de référence AIEC LF82 isolée de patients MC, a montré que cette adhésion au récepteur était liée au pili de type 1 des bactéries et induisait de ce fait une colite (Carvalho et al., 2008, 2009). Toutefois, ces bactéries pourraient aussi transloquer à travers la monocouche de cellule M (Chassaing et al., 2011) et interagir avec les plaques de Peyer, ou modifier la perméabilité intestinale en déstabilisant les jonctions serrées (Denizot et al., 2012; Shawki et McCole, 2017). Une fois que la bactérie a réussi à pénétrer dans la cellule intestinale, elle est capable de survivre et de se multiplier dans les macrophages tout en induisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α (Buisson et al., 2016; Glasser et al., 2001; Vazeille et al., 2015). En plus de ces différentes caractéristiques, les AIEC peuvent inhiber l'autophagie afin de favoriser leur persistance et la multiplication intracellulaire (Lapaquette et al., 2010; Nguyen et al., 2014).

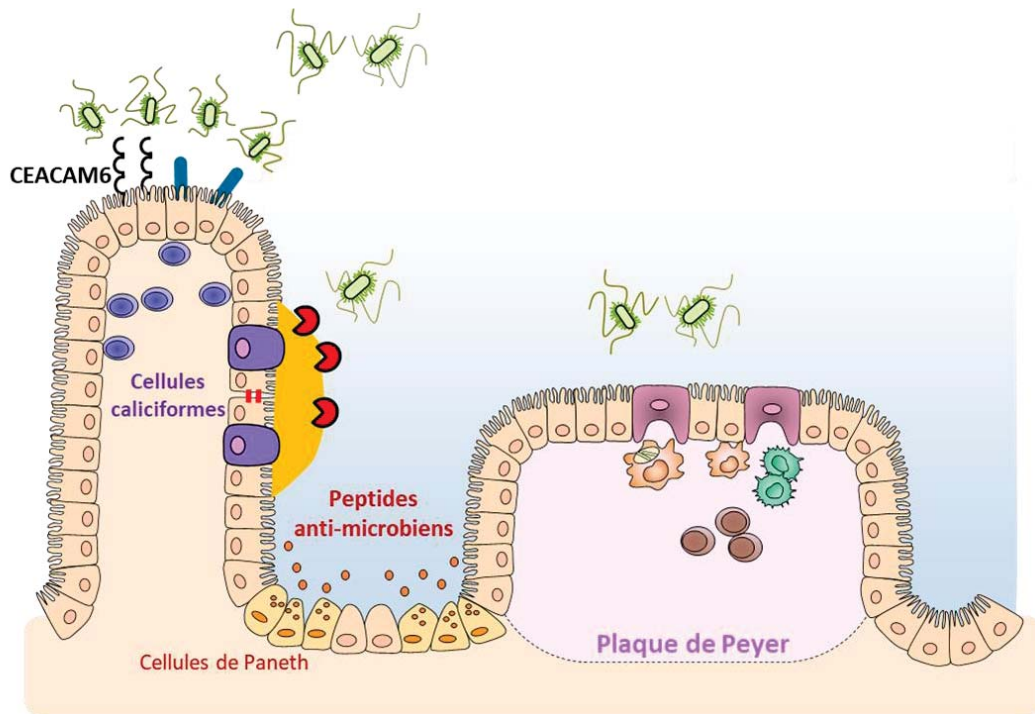


Figure 7 : Les différents mécanismes d'invasion de la barrière intestinale par *Escherichia coli* Adhérent-Invasif (AIEC), d'après Agus et al., 2014.

II.2.1.2 Implication du microbiote intestinal dans l'obésité

La principale cause d'un excès de MG résulte d'un déséquilibre entre la prise alimentaire et les dépenses énergétiques. Toutefois, nous ne pouvons pas négliger les interactions complexes entre l'environnement, la susceptibilité génétique, le mode de vie et le microbiote intestinal.

Les premières études sur la relation microbiote et obésité ont montré que des souris axéniques (dépourvues de microbiote intestinal) avaient 40% de MG en moins que des souris conventionnelles malgré une prise alimentaire 29% plus énergétique (Turnbaugh et al., 2006). Cette observation est potentiellement expliquée par une élévation d'AMPK (« AMPK: AMP-activated protein kinase ») et de PGC1- α (« Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha ») favorisant l'oxydation lipidique ainsi qu'une diminution du stockage du glycogène (Bäckhed et al., 2007). De ce fait, le microbiote intestinal a été reconnu comme un acteur pouvant extraire l'énergie des aliments « energy harvest theory », ce qui favorise l'augmentation du tissu adipeux (Bäckhed et al., 2004; Turnbaugh et al., 2006).

Cependant, les marqueurs du « energy harvesting » à savoir la richesse des enzymes capables de dégrader les polysaccharides, l'augmentation des AGCC dans les selles et la moindre perte d'énergie dans les selles, ne sont pas corrélés avec la proportion de *Firmicutes* et de *Bacteroidetes* sur la durée d'un régime riche en graisses (Murphy et al., 2010).

Tout comme les patients atteints de la MC, les sujets en surpoids et/ou obèses sont eux aussi caractérisés par une diminution de l' α -diversité ainsi qu'une dysbiose (Claesson et al., 2012). En effet, chez ces patients il a été observé une augmentation des *Firmicutes* couplée à une diminution des *Bacteroidetes* par rapport à des sujets normo-pondérés (Ley et al., 2006; Nadal et al., 2009). L'IMC, le tissu adipeux sous-cutané et viscéral ont tous les trois été positivement corrélés au rapport *Firmicutes/Bacteroidetes* (Goffredo et al., 2016). Les études de transplantation fécale permettent de confirmer la causalité du microbiote intestinal quant au développement du tissu adipeux. Les souris recevant le microbiote intestinal de donneurs obèses ou normo-pondérés développent le même phénotype que leur donneur (Turnbaugh et al., 2006, 2009; Vijay-Kumar et al., 2010).

Certaines bactéries sont négativement associées à l'adiposité telle que *Akkermansia muciniphila* (Schneeberger et al., 2015). Cette bactérie affecte de nombreux facteurs de transcription impliqués dans la lipolyse, le contrôle du cycle cellulaire, la satiété ainsi que des gènes responsables du stockage des graisses comme FIAF (« fasting induced adipose factor ») ou PPAR γ (Lukovac et al., 2014). Les bactéries lactiques (*i.e.* *Lactobacillus curvatus*, *L. plantarum*, *L. paracasei* etc.) sont également reconnues comme ayant des propriétés anti-obésité (Evvie et al., 2017; Tsai et al., 2014). En effet, ces bactéries ont la capacité de moduler le microbiote intestinal en favorisant les bactéries bénéfiques (*Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, *Bacteroidetes*) et en diminuant celles ayant des effets délétères (*Firmicutes*, *Clostridium*). Ces modifications permettent de réguler le stockage lipidique (LPL, oxydation des AGCC) et l'inflammation (amélioration de la perméabilité intestinale, réduction des niveaux de LPS) (pour revue, Tsai et al., 2014). A l'inverse certaines bactéries, comme *Ruminococcus gnavus* (Lahti et al., 2013), *Enterobacter* (Zhang et al., 2015), *Lactobacillus reuteri* (Million et al., 2012) sont positivement associées à la masse grasse. Une récente étude a établi un lien entre les changements du microbiote intestinal dans les fèces et la masse grasse viscérale (Beaumont et al., 2016). Ces auteurs ont confirmé l'augmentation des *Firmicutes* avec l'obésité, mais qu'au sein du phylum, certaines bactéries pouvaient être modulées différemment. Par

exemple *Oscillospira* s'est avérée protectrice vis-à-vis du tissu adipeux viscéral contrairement à *Blautia* qui est un marqueur potentiel du risque cardio-vasculaire. D'autres données viennent renforcer ces associations. En effet, plus récemment, il a été observé également un lien positif entre *Eubacterium dolichum* et le tissu adipeux viscéral ainsi qu'une corrélation négative entre ce même tissu adipeux et *Bifidobacterium* (alimentation contrôlée dans l'étude) (Pallister et al., 2017).

L'étude du métabolisme microbien a révélé une association positive entre le tissu adipeux viscéral et les métabolismes glyoxylate / dicarboxylate traduisant la métabolisation des acides gras en glucose (Beaumont et al., 2016). Dans les modèles murins, une alimentation riche en graisses provoque un enrichissement des voies de signalisations impliquées dans le transport membranaire ainsi que dans le métabolisme des glucides, et plus particulièrement dans les mécanismes impliqués dans le système phosphotransférase (Kreznar et al., 2017). Il a été également noté chez des sujets ayant un IMC élevé un enrichissement dans le microbiome de la biosynthèse de folate, riboflavine, nicotinamide adénine dinucléotide et du lipopolysaccharide (Liu et al., 2017).

Un bilan de l'implication du microbiote intestinal dans l'obésité est présenté dans la figure 8.

II.2.2 Les principaux acteurs impliqués dans l'interaction entre le microbiote intestinal et le tissu adipeux dans l'obésité et la maladie de Crohn

Les métabolites circulants dérivés du microbiote intestinal participant au métabolisme représentent environ 10% des métabolites circulants dans le corps humain (Joyce et Gahan, 2014). Toutefois, comme le montrent les données issues de la métagénomique, le microbiote intestinal pourrait aussi directement agir sur certaines fonctions de l'hôte pouvant alors impacter son métabolisme.

II.2.2.1 "Fasting induced adipose factor"

Fasting induced adipose factor (FIAF), aussi connu sous le nom de « Angiotensin-like protein 4 » (ANGPTL4), est fortement exprimé par le tissu adipeux et le foie, mais aussi, à de plus faibles niveaux dans le muscle squelettique, le cœur, les reins, l'intestin et le plasma (Lichtenstein et Kersten, 2010). FIAF inhibe la LPL en interrompant la dimérisation (Cushing et al., 2017; Sukonina et al., 2006).

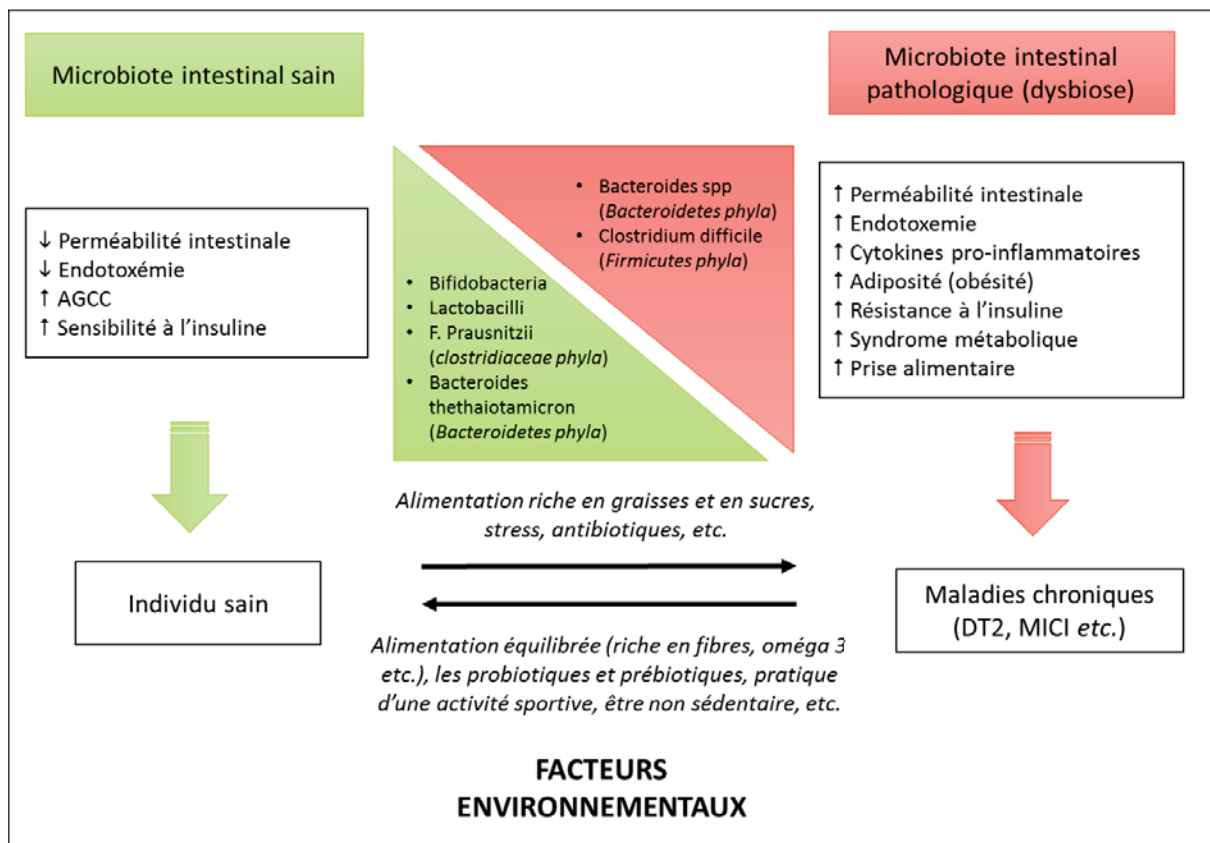


Figure 8 : Effet du microbiote intestinal sur la santé de son hôte, d'après Boulangé et al., 2016). Un microbiote intestinal sain est accompagné d'une plus grande quantité d'AGCC, reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires. Les AGCC participent à l'amélioration de la perméabilité intestinale permettant alors de réduire l'endotoxémie métabolique et ses effets délétères sur la santé de l'hôte. Au contraire, un microbiote intestinal pathologique est propice au développement de l'inflammation et de la résistance à l'insuline entraînant ainsi des maladies chroniques comme le diabète de type 2 ou une MICI. AGCC : acides gras à chaînes courtes ; DT2 : diabète de type 2 ; MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Le microbiote intestinal pourrait impacter le stockage des graisses en influençant les niveaux de FIAF. Une étude a montré que la colonisation de l'intestin de souris axéniques diminue l'expression de FIAF favorisant la prise de masse grasse via une augmentation de la LPL adipocytaire (Bäckhed et al., 2004). Cependant, il semblerait que certaines bactéries bénéfiques aient la capacité d'induire une élévation des niveaux circulants de FIAF empêchant la prise de masse grasse chez des souris soumises à une alimentation riche en graisses (Aronsson et al., 2010). Ces résultats différents montrent l'importance de la composition du microbiote intestinal pour contrer la dysbiose dans le but d'atténuer la masse grasse.

II.2.2.2 Acides gras à chaînes courtes

Le corps humain ne possède pas les enzymes appropriées pour hydrolyser les glucides complexes comme l'amidon résistant ou les fibres. Ces composants alimentaires sont alors fermentés par notre microbiote entraînant la production d'AGCC, principalement dans le caecum et le colon. Les protéines ou les peptides non digérés peuvent aussi servir de substrat pour la production d'AGCC, mais la fermentation microbienne aboutit à des métabolites dangereux (amines, phénols, indoles *etc.*) (Blachier et al., 2007; Geypens et al., 1997). Les principaux produits finaux de la fermentation microbienne intestinale sont l'acétate, le butyrate et le propionate. Leur concentration dans l'intestin suit le ratio 3 :1 :1 (Walker et al., 2005), les autres comme le formate, valérate et caproate sont présents à de plus faibles niveaux (<5%) (Cummings et al., 1987). La localisation de la production n'est pas similaire entre les AGCC, l'acétate et le propionate sont principalement situés dans l'intestin grêle et le colon alors que le butyrate est principalement localisé dans le caecum et le colon. Leur production est également différente (Figure 9). L'acétate provient du pyruvate à partir de deux voies différentes : acétyl-CoA par les bactéries entériques et via la voie de Wood–Ljungdahl par les bactéries acétogènes (*ex: Blautia hydrogenotrophica*). Le propionate est formé via le succinate par les Bacteroidetes et la voie de signalisation du lactate par les Firmicutes. Enfin, le butyrate est produit via Acétyl-CoA par les Firmicutes (*Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii* et *Ruminococcus bromii*) (Walker et al., 2005).

Cette production d'AGCC entraîne une diminution du pH, ce qui permet d'inhiber les micro-organismes pathogènes et d'augmenter l'absorption de certains nutriments (Macfarlane et Macfarlane, 2012). Ces AGCC sont ensuite absorbés par la membrane apicale de l'épithélium du colon. Le butyrate fournit 60-70% de l'énergie nécessaire aux cellules épithéliales du colon (Cummings et Macfarlane, 1991) et augmente les protéines des jonctions serrées (Matheus et al., 2017). Les AGCC peuvent aussi être transportées dans le sang pour atteindre les autres organes (*i.e.* le tissu adipeux, le foie, le muscle *etc.*) dans lesquels ils peuvent servir de substrats ou de molécules de signal. Le propionate est principalement incorporé dans la glycogénogenèse tandis que l'acétate et le butyrate sont plus fréquemment introduits dans la biosynthèse des lipides (Ríos-Covián et al., 2016). Dans ces tissus, incluant le colon, les AGCC se lient et activent lipido-récepteurs membranaires couplés à la protéine G,

les récepteurs GPR (« G-protein-coupled receptors »), GPR43 et GPR41, aussi appelés free fatty acid receptor (FFAR), FFAR 3 et FFAR 4.

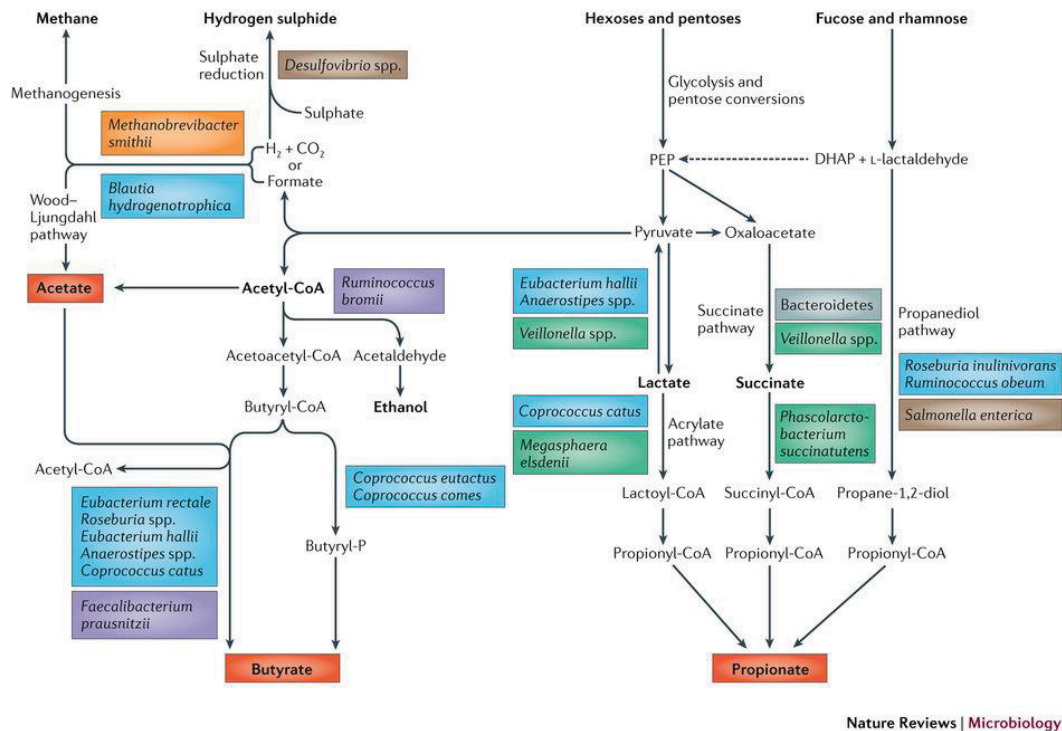


Figure 9 : Production des principaux acides gras à chaînes courtes, d'après Louis et al., 2014.

II.2.2.2.1 Acides gras à chaînes courtes et obésité

Chez les souris ou les humains obèses, le contenu en AGCC dans les selles est plus élevé que chez les sujets normo-pondérés (Fernandes et al., 2014; Schwiertz et al., 2010). Goffredo et al. ont montré une corrélation positive entre les niveaux plasmatiques d'AGCC (acétate, propionate, et butyrate) et l'adiposité (IMC, tissu adipeux viscéral et sous-cutané) (Goffredo et al., 2016). Ces observations sont alors interprétées comme une augmentation de la capacité de l'hôte à extraire l'énergie des aliments participant ainsi directement à l'obésité. Cette source d'énergie peut représenter jusqu'à 10% des calories ingérées chez l'humain (Bergman, 1990). De façon contradictoire, de nombreuses études ont montré qu'une alimentation contenant des AGCC pouvait réduire le poids, la masse grasse totale et viscérale chez des souris/rats obèse ou sous régime riche en graisses (De Vadder et al., 2014; Gao et al., 2009; Jia et al., 2017; Kondo et al., 2009; Lin et al., 2012; Lu et al., 2016; Matheus et al., 2017) ainsi que chez les humains (Chambers et al., 2015) sans induire d'hypophagie. De plus, il a été montré que des souris déficientes en GPR43, récepteur des AGCC, développaient une obésité

même en ayant une alimentation « normale » tandis que des souris sur-exprimant GPR43, surtout dans le tissu adipeux ne devenaient pas obèses, même sous régime riche en graisses (HF ; high fat) (Kimura et al., 2013). L'hypothèse d'une malabsorption des AGCC a ainsi été avancée chez les patients obèses (Allen et al., 2017). Les interactions entre les AGCC et le métabolisme énergétique de l'hôte sont complexes en raison de nombreuses contradictions entre les études. Dans ce contexte, l'analyse des mécanismes sus-jacents pourrait apporter de nouveaux éléments.

L'ensemble des études est en accord sur le fait que les AGCC favorisent la libération d'hormones anorexigènes par les cellules intestinales, GLP-1 (« glucagon-like peptide-1 ») et le peptide YY (Chambers et al., 2015; Lin et al., 2012), augmentent la dépense énergétique, pouvant ainsi favoriser la perte de masse grasse (Gao et al., 2009). Cette augmentation de l'oxydation est expliquée par une augmentation de certains gènes (*cpt1a*, *cpt1c* and *cpt2*) mais aussi par l'induction du tissu adipeux beige par les AGCC. En effet, ces auteurs ont montré des corrélations positives entre l'expression de PGC-1 α , 1 β -F1-ATPase, COX IV et l'expression de GPR43 ainsi que PGC-1 α , CD137, NRF1 et GPR41 (Lu et al., 2016). Toutefois, d'autres études sont nécessaires afin de comprendre la régulation de la mobilisation et du stockage des lipides par les AGCC. Il semblerait que les AGCC pourraient stimuler la synthèse de FIAF en activant PPAR γ (Alex et al., 2013; Korecka et al., 2013) inhibant ainsi la lipogenèse. Dans le tissu adipeux épидидymal de rats, il a été montré que les AGCC ou le butyrate pouvaient inverser les effets d'un régime HF en augmentant l'expression du récepteur adrénergique β 3 ainsi que des enzymes clés de la lipolyse LHS-p et ATGL en concomitance d'une réduction de LPL (Jia et al., 2017; Lu et al., 2016). Même s'il a été montré que des doses supraphysiologiques (5 mM) auraient un effet lipolytique sur des cellules 3T3-L1 (Rumberger et al., 2014), dans des adipocytes isolés de tissu adipeux murins ou au niveau cellulaire, de nombreuses autres études ont montré à l'inverse, une inhibition de la lipolyse par les AGCC (basale et stimulée) (Aberdein et al., 2014; Ge et al., 2008; Heimann et al., 2014; Nilsson et Belfrage, 1978; Ohira et al., 2013). Dans ce contexte, il a également été mis en évidence que le propionate, l'acétate et le butyrate affecteraient différemment la lipolyse (Jocken et al., 2017), ce qui complexifie l'interprétation des études mécanistiques.

II.2.2.2 Acides gras à chaînes courtes et inflammation

Chez des souris GPR43^{-/-}, l'inflammation suite une colite induite chimiquement est accentuée (Maslowski et al., 2009), confirmant alors les propriétés anti-inflammatoires des AGCC. En effet, les AGCC peuvent renforcer l'intégrité de la barrière intestinale en favorisant la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires, de peptides anti-microbiens et de mucus, en promouvant un phénotype de macrophages anti-inflammatoire (M2), ainsi qu'en augmentant l'expression des protéines des jonctions serrées (Gaudier et al., 2004; Nakajima et al., 2017; Peng et al., 2009; Wang et al., 2012). De plus, les AGCC peuvent aussi inhiber la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires provoquée par le LPS (Russo et al., 2012; Tedelind et al., 2007) ou un régime riche en graisses.

II.2.2.3 Le lipopolysaccharide

Le lipopolysaccharide (LPS) est le glycolipide majeur constituant de la membrane externe des bactéries Gram-négative (Hurley, 1995). Il est composé d'une partie O-antigène, d'une région centrale et du lipide A. Le lipide A est le motif moléculaire associé aux agents pathogènes, en d'autres mots, c'est cette partie qui est responsable des effets néfastes du LPS (Santos et al., 2003). Une augmentation des niveaux plasmatiques de LPS est définie comme endotoxémie métabolique (Cani et al., 2007, 2008). Cette augmentation du LPS plasmatique peut-être provoquée par une altération de la perméabilité intestinale et un transport transcellulaire (via les chylomicrons).

II.2.2.3.1 Lipopolysaccharide, obésité et alimentation riche en graisses

Chez des sujets obèses, insulino-résistants ou diabétiques de type 2, les niveaux de LPS sont augmentés de 167%, 199% et 336%, respectivement, 4 heures après l'ingestion d'un repas riche en graisses (Harte et al., 2012). Ainsi il a été montré, une augmentation de l'endotoxémie métabolique chez ces patients ou chez des sujets nourris avec un régime riche en graisses et/ou glucides (Creely et al., 2007; Guerville et al., 2017; Kallio et al., 2015). De plus, un lien entre l'obésité abdominale (viscérale) et les concentrations plasmatiques de LPS a été mis en évidence (Lassenius et al., 2016; Moreira et al., 2015). De ce fait, le LPS est impliqué dans l'apparition de désordres métaboliques et l'inflammation. En effet, des injections chroniques ont montré des effets similaires à la consommation d'un régime riche en graisses soit une augmentation de la masse grasse et de l'insulino-résistance (Cani et al., 2007).

II.2.2.3.2 Lipopolysaccharide et maladie de Crohn

Une endotoxémie est également présente chez les patients atteints de la MC (Magro et al., 2017; Pasternak et al., 2010). Pastor Rojo et al. ont montré qu'elle était observée chez 48% des patients atteints de la MC et augmentée et associée à l'activité de la pathologie (Pastor Rojo et al., 2007).

II.2.2.3.3 Aspect mécanistiques du Lipopolysaccharide sur l'inflammation et la lipolyse

D'un point de vue mécanistique (Figure 10), une fois que le LPS est dans la circulation, il est reconnu par le LBP « LPS-binding protein » et forme un complexe LBP-LPS. Il est intéressant de noter, que les niveaux de LBP ont eux aussi été corrélés à la MG abdominale (Saghafi-Asl et al., 2017) faisant du LBP un bon marqueur de l'obésité (Kim et al., 2016; Moreno-Navarrete et al., 2012). Le LBP reconnaît le LPS et le transfère au CD14 (Schumann et al., 1990; Wright et al., 1990). Ce complexe interagit avec un récepteur transmembranaire, Toll-like receptor 4 (TLR4), localisé à la surface des macrophages et des adipocytes (Khazen et al., 2005; Vitseva et al., 2008). La combinaison du LPS sur son récepteur TLR-4, nécessite l'aide du MD-2 « myeloid differentiation factor 2 » (Park et al., 2009), pour former un nouveau complexe LPS-TLR4-MD2. Il en résulte une activation de la voie NF- κ B (Creely et al., 2007; Muzio et al., 2000) provoquant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que du TNF- α , IL-6, et IL-8 entre autre (Akira et al., 2006) ou la polarisation des macrophages d'un phénotype M2 à M1. Ce mécanisme participe directement à la mise en place et au maintien d'une inflammation chronique à bas bruit caractéristique de l'obésité et de la MC.

Au niveau de l'adipocyte, l'expression du récepteur TLR-4 est augmentée chez des sujets obèses (Boutagy et al., 2016). A ce niveau, le LPS augmente la liaison avec le SR-BI « scavenger receptor class B type I » et entraîne l'endocytose. L'absorption des protéines riches en LPS est plus importante dans les adipocytes de grande taille avec une forte activité métabolique. D'autres études ont montré que le LPS provoque la lipolyse, par la voie de l'inflammation IKK β /NF- κ B dans le tissu adipeux sous-cutané (Grisouard et al., 2012; Rittig et al., 2016) et la voie ERK1/2 dans le tissu adipeux épидidymal (Zu et al., 2009).

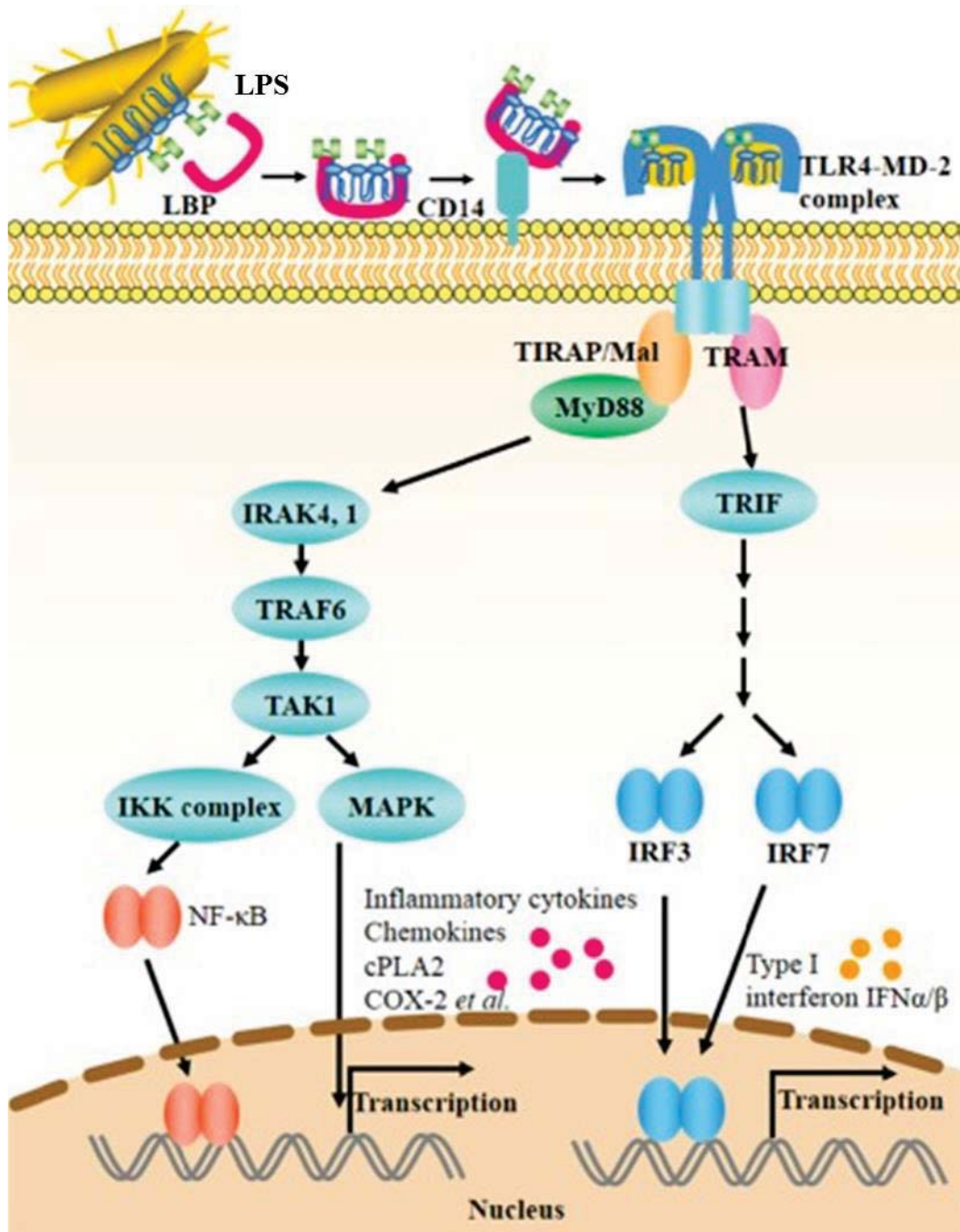


Figure 10 : Reconnaissance du LPS et formation du complexe TLR-4 – MD2 afin d’induire la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, d’après Wang et al., 2015.

En revanche, l’induction par le LPS de la voie classique PKA/LHS reste controversée (Grisouard et al., 2012; Zu et al., 2009). Encore une fois, il est important de dissocier le tissu adipeux sous-cutané du tissu adipeux viscéral. En effet, la lipolyse induite par le LPS serait supérieure dans le tissu adipeux sous-cutané chez des femmes normo-pondérées favorisant ainsi les dépôts ectopiques (Vatier et al., 2012). Ces AGL, non oxydés, pourraient être responsables de l’augmentation du tissu adipeux viscéral ou de la lipotoxicité musculaire

connue pour induire une insulino-résistance. De plus, le LPS pourrait directement impacter la sensibilité à l'insuline de par son effet sur la voie PI3K/Akt (Wakayama et al., 2014). En conclusion, le LPS apparaît comme un acteur majeur de la mise en place et maintien de l'inflammation chronique chez des patients obèses et atteints de la MC. Il participe à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires ainsi qu'à l'augmentation de l'activité lipolytique. La lipolyse induite par le LPS renforce la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et déclenche ainsi sa propre activité lipolytique, provoquant une véritable boucle d'amplification. L'effet lipolytique supérieur du LPS dans le tissu adipeux sous-cutané pourrait être responsable de l'expansion du tissu adipeux viscéral, et de ce fait accentuer les effets néfastes du LPS au niveau des profils métaboliques et inflammatoires.

II.2.2.3.4 Le système endocannabinoïde

Le système endocannabinoïde (eCB) est composé de deux récepteurs, CB1 (système nerveux central et périphérique) et CB2 (système immunitaire), activés par des ligands cannabinoïdes endogènes (l'anandamide et le 2-arachidonoylglycérol), des ligands exogènes (composés produits par la plante *Cannabis sativa* dont le plus abondant et le plus actif est le Δ^9 -transtétrahydrocannabinol ; THC) et des ligands synthétiques (HU-210). L'activation chronique de ce système (via HU-210) induit des altérations métaboliques importantes comme une intolérance au glucose, une infiltration des macrophages, une accumulation des lipides dans le muscle, une augmentation du LPS circulant et une altération de la perméabilité intestinale (Cani et al., 2016).

II.2.2.3.4.1.1 Système endocannabinoïde et obésité

L'obésité est accompagnée d'une augmentation du système eCB se traduisant par des niveaux plasmatiques et tissulaires (tissu adipeux sous-cutané et mésentérique) d'eCB élevés ainsi qu'une altération de l'expression du récepteur CB₁ (Côté et al., 2007; Little et al., 2018). Le microbiote intestinal serait fortement impliqué dans la régulation de ce système puisqu'il a été montré que la modification du microbiote intestinal vers un profil propice à la réduction de l'obésité et de ses désordres métaboliques était suffisante pour diminuer le système eCB périphérique dans deux modèles d'obésité (alimentation et génétique) (Cani et al., 2008). Ainsi il a été montré un cross-talk, modulé par le microbiote intestinal, entre le système eCB et le LPS participant à l'altération de l'adipogénèse et l'augmentation de la masse grasse (Muccioli et al., 2010).

Toutefois, il est important de souligner que les deux récepteurs pourraient avoir des rôles divergents puisqu'il a été mis en avant, contrairement à CB₁, un effet anti-obésité de CB₂ dans certaines études (Rossi et al., 2016; Zhang et al., 2016).

II.2.2.3.4.1.2 Système endocannabinoïde et maladie de Crohn

Au niveau intestinal, le système eCB intervient également dans le contrôle de la motilité, dans l'intégrité de la muqueuse, dans la régulation des sécrétions d'hormones et de l'inflammation intestinale (Lee et al., 2016). Paradoxalement aux données issues de l'obésité, il a été observé un effet protecteur du système eCB suite à une colite induite chimiquement (Couch et al., 2018; Massa et al., 2004; Storr et al., 2008).

II.2.2.3.5 Acides biliaires

Les acides biliaires primaires (choline et desoxycholine) sont synthétisés dans le foie à partir du cholestérol puis seront libérés dans l'intestin où ils seront convertis par le microbiote intestinal en acides biliaires secondaires (acide désoxycholique et lithocholique, pour exemple). Le microbiote intestinal régule le « pool » des acides biliaires mais les acides biliaires peuvent également contrôler la composition du microbiote intestinal ce qui révèle un véritable « cross-talk » entre ces deux composants (Nie et al., 2015; Wahlström et al., 2016). Hormis l'effet indiscutable antimicrobien des acides biliaires (Begley et al., 2005), il a été montré que la consommation d'acide cholique (1,25 ou 5 mmol.kg⁻¹) favorisait le phylum des Firmicutes (54% group contrôle vs. 93-98%) chez des rats (Islam et al., 2011). Ces acides biliaires, via deux récepteurs, FXR (« farnesoid X receptor ») et TGR5 (« G protein-coupled bile acid receptor »), participent au métabolisme énergétique et au statut inflammatoire.

II.2.2.3.5.1 Acides biliaires et l'obésité

Il a été montré une inhibition de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et la phosphorylation de NF-κB après stimulation au LPS chez des souris déficientes en TGR5. Ce même récepteur serait impliqué dans la diminution de l'inflammation systémique et l'infiltration des macrophages du tissu adipeux (pour revue, Shapiro et al., 2018). D'un point de vue métabolique, des données obtenues sur modèle murins montrent une augmentation de la dépense énergétique via UCP1 (Teodoro et al., 2014), une réduction du tissu adipeux blanc, ainsi qu'une amélioration du métabolisme du glucose et des lipides (Ryan et al., 2017).

Malheureusement, à l'heure actuelle, il existe peu de données cliniques sur la contribution du microbiote intestinal et le métabolisme des acides biliaires.

II.2.2.3.5.2 Acides biliaires et maladie de Crohn

Les patients atteints de la MC sont souvent caractérisés par une malabsorption des acides biliaires ce qui est accompagné de diarrhées (Wilcox et al., 2014). Dans ce contexte, Cipriani et al. ont montré que la déficience de TGR5 favorisait une colite induite chimiquement (Cipriani et al., 2011), de plus, des données cliniques ont montré que l'activité de FXR était réduite dans l'iléon de patients atteints de MICI (Nijmeijer et al., 2011) mettant en avant ces récepteurs comme cible thérapeutique dans cette pathologie.

II.2.3 Microbiote, régime de type occidental et maladies chroniques

L'alimentation peut fortement influencer le microbiote intestinal. En effet, il a été montré que les changements alimentaires peuvent représenter jusqu'à 57% de la variation du microbiote intestinal tandis que la part génétique compte seulement pour 12% (Zhang et al., 2010). Un régime occidental caractérisé par un apport pauvre en fibres et riches en graisses entraîne une dysbiose illustrée par une diminution de *Bacteroidetes*, des bactéries lactiques (*Bacillus bifidus*, *Enterococcus*) couplée à une augmentation de *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *R. torques*, *E. coli* (Hildebrandt et al., 2009; Martinez-Medina et al., 2014; Tomas et al., 2016; Zhang et Yang, 2016). De plus, la transplantation d'un microbiote riche en *Bacteroidetes* améliore la tolérance au glucose de souris mâles suite à une alimentation riche en graisses (Rabot et al., 2016). Ces modifications, dont les réponses sur le microbiote intestinal fluctuent en fonction des doses administrées, peuvent survenir dès 24h (Aguirre et al., 2016) après la consommation de ce type de régime et mettent seulement 4 jours pour atteindre un nouvel état (David et al., 2014; Tremaroli et Bäckhed, 2012). Ce déséquilibre induit par cette alimentation altère les jonctions membranaires (Shen et al., 2014), ce qui favorise une augmentation de la perméabilité intestinale (Kim et al., 2012). La translocation qui en résulte est responsable d'une endotoxémie métabolique participant directement à la mise en place d'une inflammation chronique et de dysfonctions métaboliques comme l'obésité, l'insulino-résistance et/ou un diabète de type 2 (Cani et al., 2007). De plus, cette augmentation de perméabilité intestinale associée à une inflammation favorise la colonisation de bactéries pathogènes comme AIEC LF82 chez des souris CEABAC10 mimant les symptômes de patients

atteints de MC (Martinez-Medina et al., 2014). Bien que seulement 8% des patients atteints de la MC soient obèses (Nic Suibhne et al., 2013), le risque de développer une maladie inflammatoire de l'intestin augmente avec la consommation d'une alimentation de type occidentale (Uranga et al., 2016; Wiese et al., 2016).

II.3 Modulation du microbiote : enjeux thérapeutiques

II.3.1 Aspect qualitatif de l'alimentation

Comme nous l'avons décrit précédemment, la prévalence de la MC est supérieure dans les pays au nord de l'hémisphère, principalement dans les pays occidentalisés (Amérique du Nord et Nord de l'Europe entre autres) (Ananthakrishnan, 2015; M'Koma, 2013; Ng, 2014). Ce phénomène est également reflété par une composition du microbiote intestinal différente. En effet, les enfants Africains ayant une alimentation de type méditerranéenne (riche en fibres), présentent une augmentation des *Bacteroidetes* et des *Actinobacteria* au détriment des *Firmicutes* et des *Proteobacteria*, en comparaison avec des enfants Européens (De Filippo et al., 2010). Chez des jeunes femmes japonaises, il a été montré que les habitudes alimentaires pouvaient fortement affecter l'abondance de *Bifidobacterium*, *Bacteroides* et *Clostridium* (Seura et al., 2017). Ainsi, ces dernières années il a été observé une augmentation de la prévalence et de l'incidence des maladies inflammatoires de l'intestin concomitante à l'occidentalisation de l'Asie ainsi que de l'Europe de l'Est (Ng, 2014). Ces données mettent en avant le rôle à la fois néfaste et bénéfique de l'alimentation à travers l'implication du microbiote intestinal. Ainsi, il est primordial de ne pas négliger l'aspect qualitatif à l'aspect quantitatif (*i.e.* nombre de calories) de l'alimentation (Tableau 6).

II.3.1.1 « Food Bioactive Components »

Les composés bioactifs sont généralement des constituants « extra-nutritionnels » qui peuvent être présents en petite quantité dans les plantes ou les aliments riches en graisses (Kitts, 1994).

II.3.1.1.1 Constituants des aliments riches en graisses : exemple des Oméga 3

Les oméga 3 (ω 3) représentent une famille d'acides gras essentiels nécessaires au bon développement et fonctionnement du corps humain. Ils sont principalement caractérisés par leurs propriétés anti-inflammatoires. L'acide linoléique (ALA, C18 :3), ne peut pas être synthétisé par l'organisme humain, c'est pourquoi il est qualifié d'acide gras indispensable et

doit de ce fait être apporté impérativement par l'alimentation (Costantini et al., 2017; Flachs et al., 2009). A partir de l'ALA l'organisme est capable de synthétiser l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5) ainsi que l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6). Toutefois, la conversion de l'ALA en EPA et DHA étant faible chez l'humain (5% pour l'EPA et de <0,5 % pour le DHA), ils doivent également être présents dans notre régime alimentaire (poisson gras, graines de lin, graines de chia etc.) (Plourde and Cunnane, 2007).

Tableau 6 : Composition d'une alimentation de type occidentale et non occidentale et leurs conséquences sur la santé, d'après Costantini et al., 2017; Hildebrandt et al., 2009; Lopez-Legarrea et al., 2014; Martinez-Medina et al., 2014; Tomas et al., 2016; Uranga et al., 2016.

	Alimentation occidentale	Alimentation non occidentale <i>(i.e. alimentation méditerranéenne)</i>
Alimentation riche en :	Viande rouge / transformée Beurre Produits riches en graisses Œufs Céréales raffinées Boissons sucrées	Fruits Légumes Céréales à grain entier Volaille/poulet Poisson
Molécules d'origine alimentaire :	Monosaccharides Protéines animales Cholestérol, AG trans, ↑ ω6/ω3 ↓Fibres	Glucides complexes Peptides bioactifs dérivés de Protéines (glutamine) ω3, vitamines ADEK Fibres (=prébiotiques) Vitamines hydrosolubles Phytochimiques (polyphénols)
Risque de développer une maladie inflammatoire de l'intestin :	Fort	Faible
Risque de développer une obésité :	Fort	Faible
Microbiote intestinal	↓ <i>Bacteroidetes</i> ↓ Bactéries lactiques (<i>Bacillus bifidus</i> , <i>Enterococcus</i>) ↑ <i>Firmicutes</i> , ↑ <i>Proteobacteria</i> , ↑ <i>E.coli</i>	↓ <i>Faecalibacterium</i> ↑ <i>Bacteroidetes</i> ↑ <i>Prevotella</i> ↑ <i>Enterococcus</i> ↑ <i>Bifidobacteria</i> ↑ <i>Lactobacillus</i> ↓ <i>Clostridium</i>

D'un point de vue mécanistique, les ω3 diminuent l'expression des molécules d'adhésion, inhibent le facteur de transcription NF-κB, activent le facteur de transcription PPAR (α, β, et γ), diminuent l'expression des récepteurs TLR et peuvent se lier au récepteur GPR120 (G protein coupled receptor) (Barbalho et al., 2016; Calder, 2015; Liu et al., 2015;

Madsen et al., 2005). Ces effets se traduisent par une réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α , etc.) et la captation des radicaux libres (Belluzzi et al., 2000; Endres et al., 1989). Dans un contexte d'obésité, les études, principalement menées chez l'animal, ont montré que les ω 3 diminuaient la masse grasse totale en impliquant une augmentation de la biogénèse mitochondriale et la β -oxydation (Flachs et al., 2005; Kabir et al., 2007). Au regard de la MC, il a été reporté qu'une alimentation riche en ω 3 (3.0 g.kg⁻¹ d'alimentation) limitait une inflammation intestinale induite chimiquement chez des rats Sprague Dawley (Tyagi et al., 2014). D'un point de vue clinique, l'effet des ω 3 sur le taux de rémission ou sur la récurrence s'est avéré non-concluant dans certaines études (Feagan et al., 2008; Limketkai et al., 2018; MacLean et al., 2005). Sans remettre en cause leur rôle anti-inflammatoire incontestable, d'autres études cliniques sont nécessaires afin d'élucider les mécanismes physiopathologiques à l'origine de ces adaptations, de définir une dose journalière ainsi qu'une durée de complémentation.

II.3.1.1.2 Constituant des plantes : exemple le curcumin

Le curcumin, provenant du curcuma (*curcuma longa*), est réputé pour ses propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Shehzad et al., 2013). D'un point de vue mécanistique, la diminution de l'expression de NF- κ B engendrée par le curcumin favorise la réduction de la sécrétion d'agents pro-inflammatoires (TNF- α , MCP-1, etc.) et limite l'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux (Soetikno et al., 2011). En outre, le curcumin favoriserait la diversité microbienne et améliorerait la fonction de la barrière intestinale (McFadden et al., 2015; Wang et al., 2017). De par ces effets bénéfiques, ce composé a évidemment été étudié dans les pathologies inflammatoires chroniques. En effet, le curcumin peut réduire les symptômes de la MC ainsi que des marqueurs inflammatoires (Schneider et al., 2017; Sreedhar et al., 2016). De plus le curcumin possède un rôle anti-obésité en réduisant l'adipogénèse (via la voie Wnt/ β -catenin), et la lipogénèse (via l'acide gras synthase) ainsi qu'en augmentant l'oxydation lipidique (via l'AMPK) (Ahn et al., 2010; Ejaz et al., 2009; Zhao et al., 2011).

II.3.1.2 Probiotiques et prébiotiques

II.3.1.2.1 *Les probiotiques*

D'après l'OMS et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, les probiotiques sont définis comme étant des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels. La mise en évidence de l'implication du microbiote intestinal des pathologies chroniques renforce l'intérêt d'intégrer l'utilisation de probiotiques dans la prise en charge des patients. Les principales souches étudiées sont *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* et d'autres bactéries lactiques comme *Lactococcus* et *Streptococcus*. Ces bactéries bénéfiques peuvent contrecarrer la dysbiose, la prise de masse grasse dont viscérale, l'inflammation et les dysfonctions métaboliques suite à une alimentation riche en graisses (pour revue, He et Shi, 2017). Chez des patients obèses, une récente méta-analyse a montré une réduction du pourcentage de masse grasse (non significatif en kg) après une administration de probiotiques entre 3 et 12 semaines (Borgeraas et al., 2017). Toutefois, concernant, la maladie de Crohn, peu d'effets ont été reportés que ce soit au niveau de l'induction ou du maintien d'une rémission et de la récurrence post-opératoire (Derwa et al., 2017; Lichtenstein et al., 2016).

II.3.1.2.2 *Les prébiotiques*

Les prébiotiques sont des glucides non digérés par le tractus digestif humain qui favorisent la croissance bactérienne de l'hôte et peuvent moduler le microbiote intestinal en termes de composition et de fonction (Harris et Baffy, 2017). Toutefois ces composés glucidiques doivent posséder un certain nombre de critères afin d'être reconnus comme prébiotiques à savoir : (i) résister à la digestion (ii) être fermentés par le microbiote intestinal (iii) avoir des effets bénéfiques sur l'hôte (iv) sélectionner la croissance spécifique des probiotiques (v) être stable dans l'aliment qui le contient (Markowiak et Śliżewska, 2017). Les prébiotiques se trouvent dans les produits alimentaires basiques comme les légumes, les fruits et les graines de céréales entières. Les deux glucides les plus étudiés sont l'inuline de type fructane et le galacto-oligosaccharide (GOS) (Roberfroid et al., 2010). Le premier est un polymère de fructoses reliés par un lien glucosidique β se terminant par une liaison qui relie un α D-glucose. On distingue l'inuline (longue chaîne) des fructo-oligosaccharides (FOS) (courtes chaînes). Généralement ces composés sont utilisés afin de favoriser la croissance des bifidobactéries et des lactobacilles. La fermentation de ces composés par les bactéries cibles

permet la production d'AGCC. Toutefois, pour certains patients, la consommation de ces composés peut provoquer des gaz, un temps d'adaptation est donc nécessaire. Si des résultats se sont avérés encourageant dans un contexte d'obésité (pour revue, He et Shi, 2017), les données expérimentales ne sont pas suffisantes pour conclure quant à leur efficacité dans le traitement de la MC (Lichtenstein et al., 2016).

II.3.1.2.3 Les symbiotiques

Il s'agit de la combinaison de probiotiques et de prébiotiques. Les prébiotiques augmentent la survie des souches probiotiques et stimulent l'activité du microbiote intestinal de l'hôte. L'effet des symbiotiques n'a pas été testé chez des patients MC mais a montré des résultats intéressants chez les sujets obèses, ou diabétiques (Markowiak et Śliżewska, 2017). Du fait d'une très grande combinaison possible, l'effet des symbiotiques chez l'humain est très prometteuse mais nécessite encore de nombreuses études.

II.3.2 Effets des médicaments

II.3.2.1 Antibiotiques

Les antibiotiques (*i.e.* ampicilline, metronidazole, neomycine, vancomycine *etc.*) ont des propriétés bactéricides et bactériostatiques. De ce fait, ils altèrent la composition et certaines fonctions du microbiote intestinal. Par exemple, chez des souris, un traitement à la streptomycine réduit de 90% le nombre de bactéries contenues dans les fèces (Antunes et al., 2011). De plus, une perte de la résistance à la colonisation est observée favorisant alors l'implantation de pathogènes opportunistes comme *Salmonella typhimurium* ou *Clostridium difficile* (Ng et al., 2013). Il est également important de souligner qu'un traitement antibiotique chez des enfants est responsable d'une déficience ou d'un retard dans l'établissement du microbiote intestinal et de ses fonctions pouvant avoir des conséquences sur la santé futur de l'enfant (exemple : obésité) (Arboleya et al., 2016; Nogacka et al., 2018).

II.3.2.2 Antidiabétique : focus sur la Metformine

Bien qu'il existe une panoplie d'antidiabétiques oraux, la metformine est le traitement le plus fréquemment utilisé et donc le plus étudié dans ce contexte. La metformine est un antidiabétique oral appartenant à la famille des biguanides. Elle permet de réduire la production de glucose en agissant sur l'AMPK, favorise la consommation de glucose par le muscle et augmente le taux de GLP-1 plasmatique. En revanche, ces effets sont inexistant

lorsque la metformine est administrée par voie veineuse suggérant ainsi un rôle primordial de l'intestin dans son mode d'action (Bonora et al., 1984). Ainsi, chez des patients diabétiques de type 2, ce traitement pourrait palier à la dysbiose en augmentant *Akkermensia Muciniphila*, une bactérie dégradant la mucine, et les bactéries productrices d'AGCC lui conférant par ce biais ses propriétés anti-hyperglycémiantes (de la Cuesta-Zuluaga et al., 2017; Forslund et al., 2015; Lee and Ko, 2014; Shin et al., 2014).

II.3.3 Transplantation de microbiote fécale

La transplantation de microbiote fécale (TMF) est l'administration d'une solution de matière fécale d'un donneur à un receveur dans le but de modifier favorablement la composition du microbiote intestinal. Actuellement, cette technique, ayant plus de 90% d'efficacité, est utilisée pour traiter une infection à *Clostridium difficile* (Kassam et al., 2013).

Dans un contexte de syndrome métabolique, cette thérapie a montré des résultats prometteurs via l'amélioration de la sensibilité à l'insuline chez ces patients accompagnée par une modification du microbiote intestinal en faveur d'une production d'AGCC mais cela sans effet sur le poids ou le pourcentage de masse grasse (Kootte et al., 2017; Vrieze et al., 2012). Cependant, à l'heure actuelle, peu de données sont disponibles chez des patients en surpoids et/ou obèses.

Au contraire, l'effet de la TMF est plus étudié chez les patients MICI (dont MC) permettant la réalisation de méta-analyses. Ainsi, des analyses en sous-groupes, ciblant les patients MC, ont montré une rémission clinique de 60,5 % chez ces sujets (Colman et Rubin, 2014). Ces données ont été confirmées par l'étude de Cui et al. montrant une amélioration des signes cliniques et de la rémission clinique au premier mois de 86,7 % et de 76,7%, respectivement (Cui et al., 2015). Dans cette étude, le suivi effectué au cours des 15 mois suivant a confirmé le maintien de l'efficacité clinique contrairement à Suskind et al., qui ont observé un effet transitoire de la TMF à 12 semaines (Suskind et al., 2015).

Malgré de premiers résultats prometteurs dans les pathologies inflammatoires chroniques, de nombreux paramètres sont encore à définir et maîtriser avant de généraliser cette technique (Figure 11).

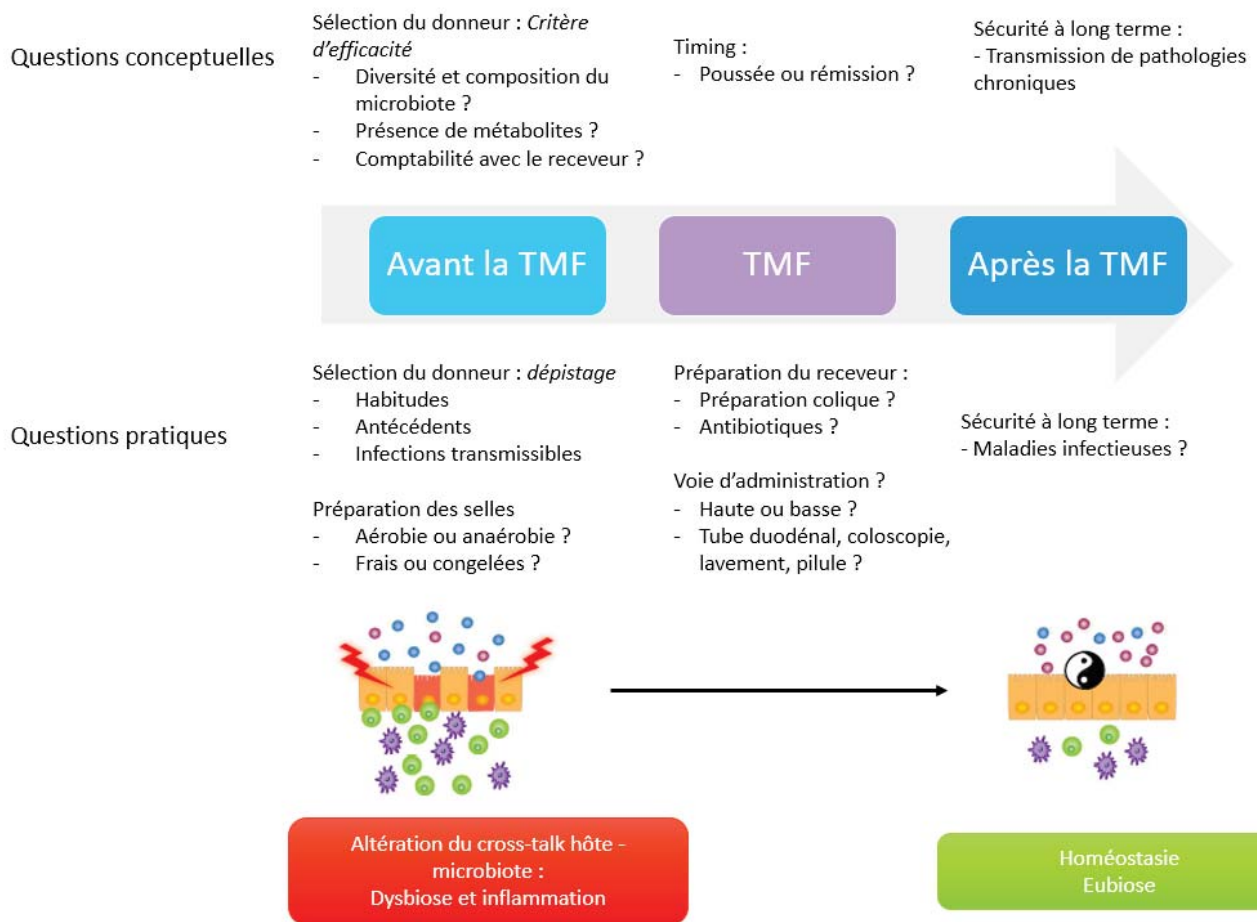


Figure 11 : Paramètres à prendre en compte pour la réalisation d'un transfert de microbiote fécal (TMF), d'après Marotz and Zarrinpar, 2016; Pigneur and Sokol, 2016.

MESSAGES A RETENIR - PARTIE II

- ✓ Le microbiote intestinal possède de nombreuses fonctions essentielles à l'hôte.
- ✓ Un déséquilibre du microbiote intestinal (dysbiose) entraîne la survenue de pathologies chroniques comme l'obésité ou les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (ex : maladie de Crohn).
- ✓ Les acides gras à chaînes courtes, produits par le microbiote intestinal, jouent un rôle anti-inflammatoire et diminuent la prise de poids ainsi que de masse grasse. Leur lien direct sur le tissu adipeux reste controversé.
- ✓ Le lipopolysaccharide, un composant des bactéries Gram-négative, est impliqué dans la survenue d'une inflammation chronique et dans la prise de masse grasse.
- ✓ Une alimentation riche en graisse et en sucres entraîne une dysbiose accompagnée de désordres métaboliques et d'une inflammation tandis qu'une alimentation riche en oméga 3, en polyphénols (curcumin) et en fibres impacte favorablement le microbiote intestinal.
- ✓ La modulation du microbiote intestinal est donc envisagée comme une visée thérapeutique prometteuse.

III Impact de l'activité physique dans l'interaction tissu adipeux – microbiote

Au vu des récentes données de la littérature, la prise en charge thérapeutique de ces deux pathologies inflammatoires chroniques qui sont l'obésité et la maladie de Crohn (MC) pourrait être optimisée. Dans un premier temps, les stratégies ciblant la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale, dans un contexte d'obésité, incluent l'activité physique et/ou l'alimentation. Toutefois, étant donné que la masse grasse viscérale est reconnue comme la plus nocive, une réduction de cette dernière s'avère indispensable. La récente méta-analyse de Verheggen et al. confirme que l'activité physique et/ou l'alimentation réduisent significativement la MG viscérale, toutefois l'activité physique tend à provoquer de meilleurs effets sur la perte de MG viscérale comparée à l'alimentation ($p=0.08$) (Verheggen et al., 2016). En effet, dans cette revue, 117 études (4815 sujets) ont été inclus, et malgré l'absence de perte de poids, l'exercice seul est impliqué dans 6,1 % de la réduction du tissu adipeux viscéral tandis que l'alimentation ne représente que 1,1%. Ces données sont confirmées par l'équipe de Vissers montrant également que l'alimentation et l'activité physique diminuent le tissu adipeux viscéral mais avec un effet plus marqué pour l'activité physique (Vissers et al., 2016). Dans un contexte de MC, les interventions de derniers recours à savoir les traitements médicamenteux et/ou la chirurgie visent uniquement à diminuer les symptômes de ces deux pathologies et ont de nombreux effets secondaires. A ce niveau, il est important de noter que l'activité physique en post-opératoire, prolonge les périodes de rémissions dans un contexte de MC (Jones et al., 2015). La chirurgie peut également être pratiquée chez des patients obèses. Dans cette population l'activité physique s'avère également intéressante puisqu'il a été rapporté qu'elle pouvait empêcher la reprise de poids chez ces sujets après opération (Mundbjerg et al., 2018). Ainsi, quel que soit le stade de ces pathologies, les bénéfices de l'activité physique dans leur prise en charge est indéniable.

III.1 Effet des différentes modalités d'exercice sur la perte de masse grasse

III.1.1 Entraînement traditionnel pour diminuer la masse grasse

Actuellement, il est admis que la pratique d'une activité physique régulière s'avère bénéfique et est indispensable que ce soit au niveau de la prévention et/ou du traitement de

l'obésité. En 2007, le collège américain de médecine du sport (ACSM) et de l'association américaine d'étude des maladies du cœur (AHA) ont mis à jour les recommandations concernant l'activité physique (Tableau 7).

Tableau 7 : Recommandations d'activité physique pour la population générale adulte.

Fréquence	Intensité	Durée	Type
5 jours/semaine	Modérée (3–6 METs)	30 min (par session de 10 min ou plus)	Endurance (aérobie) de type marche rapide
<u>OU</u> 3 jours/semaine	Élevée (>6 METs)	20 min (par session de 10 min ou plus)	Endurance (aérobie) de type jogging
<u>ET</u> 2 jours/semaine (non consécutifs)		8 à 10 exercices 8 à 12 répétitions par exercice	Résistance (poids)

MET : Metabolic Equivalent Task

III.1.1.1.1 Exercice continu d'intensité modérée

Pour les personnes en surpoids et/ou obèses, il est généralement conseillé des exercices continus d'intensité modérée MICT (« moderate-intensity continuous training »). L'utilisation de cette modalité s'appuie sur le concept du cross-over et du LIPOX_{max} développé par Brooks et Mercier (Figure 12). Le « cross-over » ou point de croisement est défini comme la puissance d'exercice à partir de laquelle l'énergie provenant de l'utilisation des glucides (oxydation, glycolyse, glycogénolyse) prédomine sur celle provenant de l'oxydation des lipides (Brooks et Mercier, 1994). Le « cross over » permet ainsi de mettre en avant les différents substrats utilisés au cours de l'exercice. Lors d'un exercice de faible intensité ($\leq 45\%$ de la consommation maximale d'oxygène ; VO_{2max}), les principaux substrats utilisés sont les lipides alors qu'à des intensités supérieures ($\approx 75\% VO_{2max}$) les glucides seront majoritairement utilisés (Brooks et Mercier, 1994).

A partir de ce concept, il a été déterminé le LIPOX_{max} (encore appelé FAT_{max}), soit l'intensité d'exercice pour laquelle l'utilisation des lipides est maximale à l'effort (Pérez-Martin et al., 2001). Cette zone varie entre 47 et 75% de VO_{2max} selon le niveau d'entraînement, le sexe et la nutrition du sujet (Purdom et al., 2018). Malgré une grande

variabilité entre les individus, ceux en surpoids et/ou obèses ont un LIPOX_{max} situé entre 40 et 55 % de VO₂ max (Romain et al. 2012). Lors de ce type d'exercice, la diminution du tissu graisseux est expliquée par l'augmentation de la lipolyse adipocytaire et musculaire entraînant la libération d'acides gras libres qui sont utilisés via la β -oxydation durant l'effort. De plus, une pratique chronique augmente la quantité et l'activité des mitochondries, ainsi que le contenu en enzymes oxydatives au niveau du tissu adipeux et musculaire majorant alors les effets bénéfiques de l'activité physique sur l'utilisation des lipides (Monod et al. 2011).

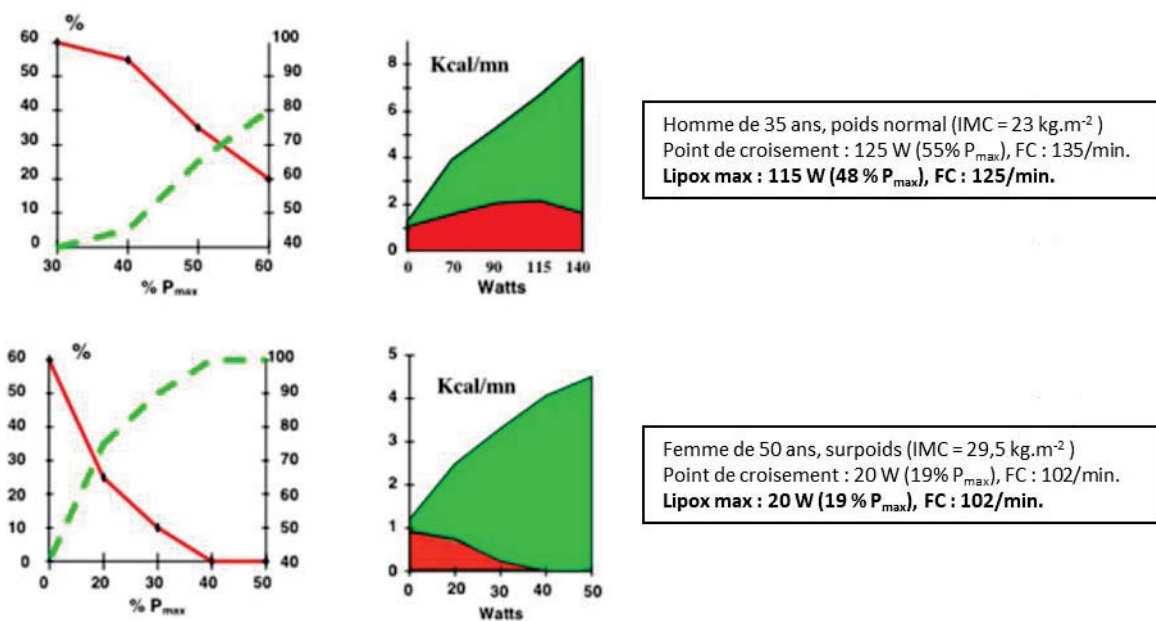


Figure 12 : Différents profils métaboliques selon le concept du « crossover », d'après Brooks et Mercier (établi chez des sujets sains non obèses).

III.1.1.1.2 Renforcement musculaire

Un entraînement en force permet de maintenir et/ou augmenter la masse et la force musculaire ainsi que sa fonction (Van Etten et al., 1997) grâce à une hypertrophie et à un remodelage neuromusculaire (Romero-Arenas et al., 2013). Cependant, ce type d'entraînement a peu d'effet sur la masse grasse totale, et viscérale en comparaison à un entraînement de type MICT (Ismail et al., 2012; Keating et al., 2017; Lee et al., 2013; Slentz et al., 2011; Willis et al., 2012). Toutefois, une plus grande masse musculaire implique une augmentation du métabolisme de base participant à l'augmentation de la dépense énergétique journalière.

Ce type d'entraînement favorise également une augmentation de l'oxydation lipidique et glucidique soit directement via une activation de PGC1- α ou indirectement de par l'augmentation de la sensibilité à l'insuline. En effet, la contraction induite par l'activité physique augmente CaMK II phosphorylant ainsi des facteurs de transcription (histones désacétylases). Ces facteurs provoquent à leur tour la phosphorylation d'autres facteurs de transcription (MEF2) ainsi que leurs gènes cibles comprenant le récepteur au glucose (GLUT-4). Une meilleure captation du glucose participe ainsi à l'amélioration de l'homéostasie énergétique chez des patients obèses et/ou diabétiques de type 2.

III.1.2 Modalités : Focus sur l'entraînement intermittent de haute intensité

Au cours de ces dernières années, l'entraînement intermittent de haute intensité (HIIT pour « high intensity interval training ») a gagné en popularité aussi bien chez les sujets en situations pathologiques que chez les athlètes (Azuma et Matsumoto, 2017). De récentes données ont montré que l'HIIT améliore la composition corporelle de façon « time-efficient » (Maillard et al., 2018).

III.1.2.1 Définition

Un entraînement de type HIIT consiste à alterner des périodes à haute intensité suivies de périodes de récupération actives ou passives (Weston et al., 2014) (Figure 13).

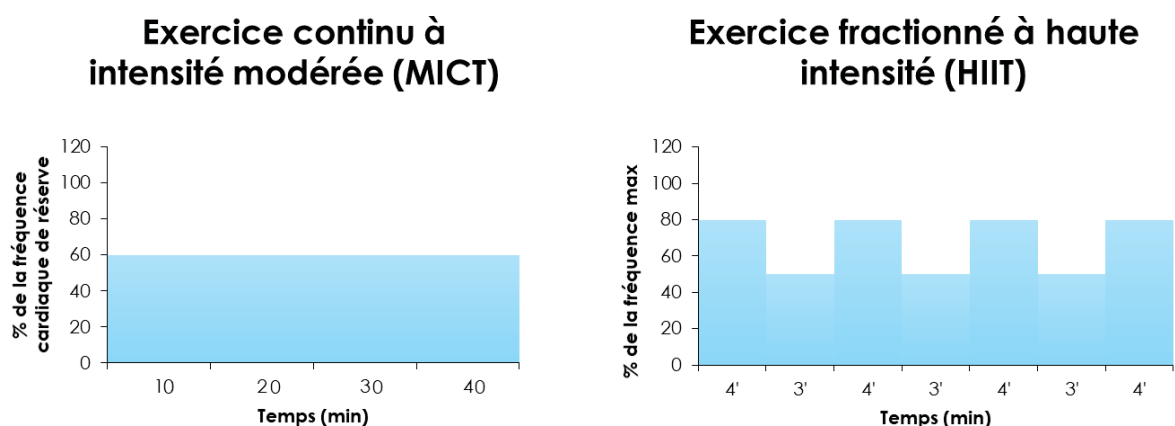


Figure 13 : Les différentes intensités entre un entraînement de type continu modéré et fractionné à haute intensité.

Un programme HIIT inclut 8 composantes principales (l'intensité maximale de la charge de travail, la durée maximale de la charge de travail, la charge de récupération, la durée de la

récupération, le nombre de répétitions et les séries et la durée/intensité des phases entre les séries) (Buchheit and Laursen, 2013). Ainsi une infinité de combinaisons sont possibles, ce qui rend difficile de trouver le protocole idéal en vue d'améliorer les capacités aérobies, d'induire des adaptations métaboliques ou une perte de masse grasse. De plus, la manipulation isolée de chaque variable peut affecter les réponses physiologiques aiguës ou chroniques (Gosselin et al., 2012). Dans la littérature, un grand nombre de terme est utilisé pour désigner ce type de protocole comme « aerobic interval-training (AIT) », « high-intensity intermittent exercise (HIIE) » ou « sprint interval training (SIT) ». Weston et al. ont alors suggéré une simple classification basée sur l'intensité de l'exercice. Le terme HIIT devrait être utilisé pour les protocoles ayant une intensité proche du maximal (*i.e.* entre 80-100 % de la fréquence cardiaque (FC)_{pic}) alors que la nomination SIT est plus approprié pour des efforts « all out » ou supramaximal ($\geq 100\%$ VO₂max). Cette distinction est d'autant plus importante que les adaptations entre le SIT et le HIIT sont différentes (Granata et al., 2016; MacInnis and Gibala, 2017). De plus, un programme SIT est non praticable et/ou mal toléré chez les sujets inactifs, en surpoids et/ou obèses. Inversement, le HIIT est bien toléré et représente une stratégie « time-efficient » pour améliorer la santé des patients (Kessler et al., 2012).

III.1.2.1.1 Entraînement intermittent de haute intensité et plaisir

Même si un effort de type HIIT peut s'avérer quelques fois peu plaisant, après l'effort le HIIT est autant voire plus apprécié que le MICT aussi bien chez les personnes obèses (Kong et al., 2016; Vella et al., 2017) que normo-pondérées (Astorino et Thum, 2016; Jung et al., 2014; Thum et al., 2017). Les raisons évoquées sont la moindre durée d'effort (aspect « time efficient ») et les changements de stimulation (aspect ludique) (Thum et al., 2017). Toutefois, le plaisir pour ce type d'entraînement diminue lorsque que l'intervalle d'effort augmente. Un temps d'effort égal à celui de récupération semble être nécessaire et optimal pour une perception positive de l'exercice pendant et après sa réalisation (Martinez et al., 2015).

III.1.2.1.2 Notions à prendre en compte avant la prescription

Bien qu'il soit applicable chez les obèses, certaines recommandations sont à prendre en compte lors de la prescription. Un programme HIIT ne peut pas être proposé à des personnes ayant un diabète instable ou après de récents problèmes cardiaques (Weston et al., 2014). Pour ces sujets ou les individus ayant un haut niveau de sédentarité et d'inactivité, l'ACSM, recommande un minimum d'activité physique, soit 20 à 60 min 3 à 5 fois par semaine

avant de commencer un programme d'entraînement (Donnelly et al., 2009). Quant au choix de la modalité HIIT, des activités portées seront conseillées pour des personnes ayant des problèmes d'articulations, comme le vélo ou la natation (Rector et al., 2009).

III.1.2.2 Perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale suite à un entraînement HIIT

Trois récentes méta-analyses ont comparé les effets du HIIT ou HIIT/SIT par rapport au MICT sur la composition corporelle. Deux d'entre elles ont montré que la perte de masse grasse totale était similaire entre les deux modalités (Keating et al., 2017; Wewege et al., 2017) tandis que Türk et al. ont montré un effet supérieur du HIIT pour réduire le pourcentage de masse grasse (Türk et al., 2017). Dans notre méta-analyse, en étudiant uniquement l'effet d'un entraînement HIIT sur la composition corporelle, nous avons montré que cette modalité était efficace pour diminuer la masse grasse totale, abdominale et viscérale (Maillard et al., 2018).

III.1.2.2.1 Effet du HIIT sur le poids corporel

Dans notre méta-analyse nous avons montré que la perte de masse grasse était observée uniquement chez les sujets obèses et non chez les normo-pondérés ((Maillard et al., 2018). Cependant, le nombre d'études sur les normo-pondérées est faible (n=2 dans notre analyse). En effet, les programmes de type HIIT ou SIT ont tout d'abord été utilisés chez les athlètes de haut niveau pour augmenter la VO₂ max et/ou réduire le pourcentage de masse grasse avant une compétition (Gibala and Jones, 2013; Ribeiro et al., 2015). L'utilisation de l'HIIT chez les personnes en surpoids et/ou obèses est plus récente et peu d'études ont été réalisées chez des personnes normo-pondérées non sportives.

III.1.2.2.2 Modalité : course à pied vs. bicyclette

La course à pied semblerait plus efficace pour diminuer la masse grasse totale et viscérale (Maillard et al., 2018). Cependant, le manque d'informations concernant les protocoles aussi bien pour le vélo (le type de cycle utilisé, le nombre de tours par minute, la résistance, la puissance, la fréquence cardiaque, etc.) que la course à pied (vitesse, pente du tapis roulant, la fréquence cardiaque, etc.) peut rendre difficile la comparaison entre ces modalités.

III.1.2.2.3 Le genre : Homme vs. femmes

Les potentielles différences hommes-femmes au regard de la perte de masse grasse viscérale après un programme HIIT pourraient être expliquées par une morphologie

différente. En effet, les hommes sont en général plus sujets à la perte de masse grasse viscérale après une activité physique en raison d'une plus grande quantité de ce tissu adipeux comparativement aux femmes (Vissers et al., 2013). Dans ce sens, Morikawa et al. ont montré un effet supérieur de l'HIIT chez des hommes par rapport aux femmes, cependant, la composition corporelle a été analysée par impédance, qui n'est pas la méthode de référence (Morikawa et al., 2011). Dans notre méta-analyse, nous n'avons pas mis en avant d'effet sexe concernant la réduction de masse grasse totale, abdominale et viscérale (Maillard et al., 2018).

III.1.2.3 Mécanismes impliqués dans la modification de la composition corporelle après un entraînement de type HIIT

III.1.2.3.1 *Mécanismes impliqués dans la perte de masse grasse totale*

III.1.2.3.1.1.1 *Mécanismes observés lors d'une session d'exercice*

Les mécanismes induisant une perte de masse grasse ne sont pas totalement élucidés. Les réponses métaboliques aiguës (1 session d'exercice) semblent dépendre du protocole utilisé (Buchheit et Laursen, 2013). Lors d'un exercice à haute intensité (*i.e.* >65% VO₂max) ou de type HIIT, la sécrétion de catécholamines augmente significativement chez les hommes et les femmes favorisant ainsi la lipolyse via la stimulation des récepteurs β-adrénergiques (Trapp et al., 2007; Zouhal et al., 2008). Cependant, ces AGL ne sont pas utilisés comme source d'énergie durant l'exercice. En effet, les principaux substrats lors d'un effort à haute intensité sont les glucides en raison de leur rapidité à être mobilisés et oxydés. C'est seulement lors des périodes de récupérations que les AGL préalablement mobilisés seront oxydés. Il a été montré que l'HIIT provoquait une plus grande augmentation de la dépense énergétique post-exercice ainsi qu'un plus faible quotient respiratoire (QR) post-exercice (à 30 et 60 minutes) reflétant alors une augmentation de l'oxydation lipidique chez des jeune femmes normo-pondérées (Wingfield et al., 2015). De plus, l'oxydation des AGL pendant la période de récupération est facilitée par l'excès de consommation d'oxygène post-exercice (EPOC) (Pillard et al., 2010), qui est corrélé avec l'intensité de l'exercice (Børsheim et Bahr, 2003). Le HIIT facilite la consommation d'oxygène pendant la période de récupération, et serait même plus efficace que le MICT (Karstoft et al., 2016), menant à une plus grande dépense énergétique couplée à une meilleure oxydation lipidique (Larsen et al., 2014).

III.1.2.3.1.1.2 Mécanismes observés après plusieurs sessions (entraînement)

Un entraînement régulier de type HIIT améliore les capacités oxydatives lipidiques au niveau systémique et musculaire chez des jeunes femmes modérément actives (Talanian et al., 2007), chez des jeunes adultes sains (Perry et al., 2008), chez des femmes pré-ménopausées en surpoids et/ou obèses (Arad et al., 2015) et chez des hommes en surpoids et/ou obèses (Alkahtani et al., 2013). L'augmentation de l'oxydation lipidique résulte de plusieurs adaptations (Figure 14) :

- 1) La lipolyse adipocytaire
- 2) La dissociation des AGL de l'albumine
- 3) Le transport des AGL à travers le sarcolemme
- 4) L'activation des AGL en acyl-CoA
- 5) Le transport de l'acyl-CoA à travers la membrane mitochondriale
- 6) L'activité et la quantité des enzymes oxydatives (β -oxydation)

Ces dernières années, les mécanismes de l'effet du HIIT sur ces six principales adaptations ont été largement étudiés. Le contenu et la localisation de FAT/CD36 et FABPpm, deux protéines permettant le passage des AGL à travers la membrane musculaire, sont majorées après un entraînement de type HIIT (Perry et al., 2008; Talanian et al., 2010).

Ensuite, les AGL présents dans le sarcoplasme doivent être transportés dans la matrice mitochondriale afin d'y être oxydés. La carnitine palmitoyl transférase (CPT) est essentielle pour la réalisation de cette étape, c'est pourquoi, elle est considérée comme l'enzyme majeure limitante pour l'oxydation lipidique (Jogl et al., 2004). Après un entraînement de type HIIT, l'activité musculaire maximale de CPT-1 est significativement augmentée (46% dans l'étude de Talanian et al.). Cependant, il est difficile de détecter les changements de CPT-1 dans la mitochondrie car elle est conjuguée à FAT/CD36 (Holloway et al., 2009; Talanian et al., 2010). De façon similaire, le facteur de transcription mitochondrial A (TFAM), induisant la croissance et la division mitochondriale, est augmenté après seulement deux semaines d'un faible volume d'HIIT traduisant alors une majoration de la biogénèse mitochondriale (Little et al., 2011).

Enfin, en plus d'une augmentation de la quantité des mitochondries, le contenu enzymatique est également majoré avec un entraînement HIIT, comme le montre

l'augmentation de l'activation de la 3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase (β -HAD) et de la citrate synthase (Gurd et al., 2010; Perry et al., 2008). Plus récemment, Gibala et son équipe ont réalisé un protocole original consistant à étudier l'effet de 6 sessions de HIIT [4 × (5 min à 65% W_{pic} alterné avec 2.5 min à 20% W_{pic})] sur une jambe et l'effet du MICT (30 min à 50% W_{pick}) sur l'autre jambe. En accord avec les résultats présentés récemment, la jambe ayant bénéficié de l'entraînement HIIT avait une plus grande activité de la citrate synthase et de meilleures capacités de phosphorylation oxydative (MacInnis et al., 2017).

De plus, PGC-1 α est aussi augmenté après un programme HIIT (Boyd et al., 2013; Egan et al., 2010; Schjerve et al., 2008; Tjønnå et al., 2009). PGC-1 α est un régulateur clé du métabolisme énergétique favorisant l'oxydation lipidique via la biogénèse mitochondriale, en remodelant la composition des fibres musculaires en un phénotype plus oxydatif et en augmentant les enzymes oxydatives (Liang and Ward, 2006). Des études ont montré que PGC1- α pouvait provoquer le « browning » du tissu adipeux blanc (*i.e.* la conversion des adipocytes matures blanc en adipocytes beige avec de plus grande capacités oxydatives) (Boström et al., 2012; Tiraby et Langin, 2003). Cependant, il est nécessaire de confirmer la capacité de l'HIIT à induire d'expression de PGC1- α dans le tissu adipeux sous-cutané et viscéral.

III.1.2.3.2 Perte de masse grasse abdominale et viscérale

Les mécanismes responsables d'une plus grande perte de masse grasse abdominale, notamment viscérale après un entraînement de type HIIT par rapport à d'autres modalités ne sont pas encore élucidés. Le HIIT est une modalité bien adaptée pour augmenter le niveau circulant AGL durant l'effort et de promouvoir une plus grande oxydation lipidique durant la période de récupération. Comme la quantité des récepteurs β -adrénergiques est plus importante dans le tissu adipeux viscéral que sous cutané (Rebuffé-Scrive et al., 1989), la plus grande activation du système nerveux sympathique (par la libération de noradrénaline) durant l'HIIT peut expliquer la plus grande libération d'AGL à partir du tissu adipeux viscéral. De plus, ce tissu adipeux possède des adipocytes de petite taille (Salans et al., 1973), possédant une plus grande activité lipolytique (Ostman et al., 1979) et une plus faible réponse à l'effet anti-lipolytique de l'insuline (Bolinder et al., 1983) que le tissu adipeux sous-cutané. Ces observations, peuvent en partie expliquer la perte de masse grasse viscérale après un entraînement de type HIIT.

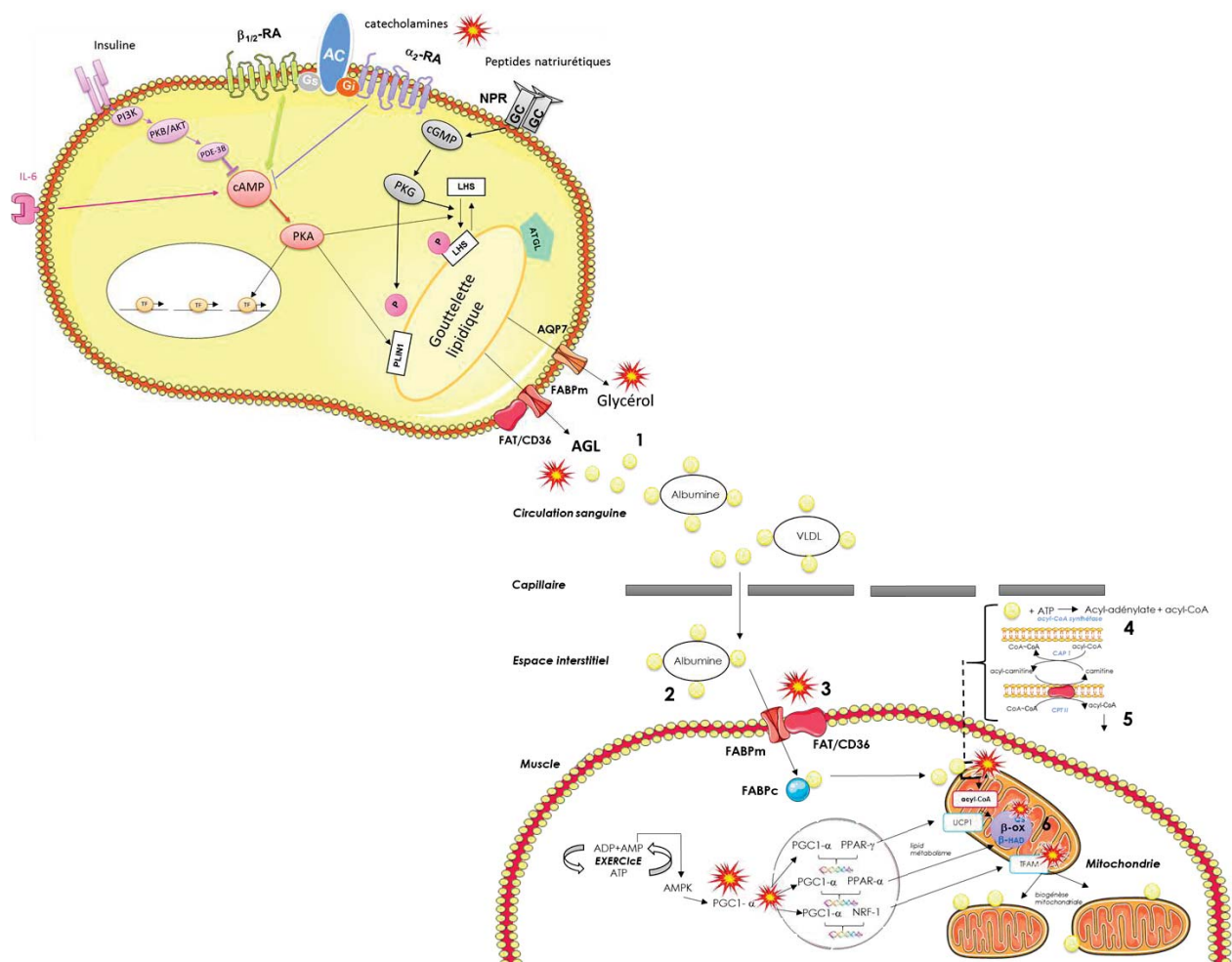


Figure 14 : Effet du HIIT sur la lipolyse adipocytaire et l'oxydation des lipides musculaire. AR: Récepteurs adrénergiques; NPR: Natriuretic peptide receptor; GC: guanylyl cyclase; AC: adenylyl cyclase; Gs: stimulatory GTP-binding protein; Gi: inhibitory GTP-binding protein; PKG: protéine kinase G; LHS : lipase hormono-sensible; ATGL: Adipose triglycérade lipase; PKA: protéine kinase A; IRS-1: insuline récepteur substrate-1; PI3K: phosphatidylinositol-3-phosphate kinase; PKB/AKT: protein kinase B; PDE-38: phosphodiesterase 38; TF: transcription factor; PLIN1: perilipin 1; AQP7: Aquaporin-7; FABP: Plasma membrane fatty acid-binding proteins; FAT/CD36: fatty acid translocase; AGL: Acides gras libres ;VLDL: very low density lipoprotein; PGC1- α : proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; PPAR- α : peroxisome proliferator-activated receptor alpha; UCP-1: uncoupling protein; AMPK: AMP-activated protein kinase;TFAM: transcription factor A mitochondrial; β -ox: β -oxydation; β -HAD: β -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase; CAP 1: Cyclase-Associated Protein; CPT II; carnitine palmitoyltransferase 2. 1) La lipolyse adipocytaire, 2) La dissociation des AGL de l'albumine, 3) Le transport des AGL à travers le sarcolemme, 4) L'activation des AGL en acyl-CoA, 5) Le transport de l'acyl-CoA à travers la membrane mitochondriale, 6) L'activité et la quantité des enzymes oxydatives (β -oxydation).

Action de l'HIIT

III.1.2.3.3 Perte de masse grasse totale majorée avec la course à pied

Les réponses physiologiques, métaboliques et ergonomiques sont différentes entre la course à pied et le vélo. Courir favorise une plus grande masse musculaire, et le type de

contraction musculaire (concentrique et excentrique) contribue à une plus grande oxydation lipidique à une même intensité (Capostagno et Bosch, 2010; Knechtle et al., 2004). De plus, l'excès de EPOC, favorisant l'oxydation des graisses en récupération est plus important après avoir pratiqué de la course à pied que du vélo (Cunha et al., 2016). La concentration plasmatique du lactate est supérieure après le vélo (Cunha et al., 2016), ce qui reflète une plus grande utilisation des glucides (Knechtle et al., 2004). Ces résultats peuvent expliquer l'effet supérieur de la course à pied à diminuer la masse grasse totale. En revanche, il est plus difficile d'expliquer l'impact de ces deux modalités sur la masse grasse viscérale. L'hypothèse émise rejoint celle énoncée précédemment pour la modalité HIIT. Davies et al. 1974 ont reporté que la sécrétion de catécholamines serait proportionnelle à la masse musculaire impliquée dans l'exercice (Davies et al., 1974), ce qui expliquerait la plus grande perte de tissu adipeux viscéral avec la course à pied. Cependant, cette observation n'est pas vérifiée par l'étude de Niemann et al. (Nieman et al., 1998).

III.2 Effet de différentes modalités d'exercice dans la maladie de Crohn

Actuellement les thérapies mises en place pour lutter contre la maladie de Crohn ont une efficacité limitée et/ou peuvent entraîner des effets secondaires. Dans ce contexte, l'activité physique, dont l'effet anti-inflammatoire n'est plus à démontrer, pourrait être utilisé comme traitement alternatif. De plus, comme dans l'obésité, certaines modalités pourraient être préconisées afin de réduire le « creeping-fat ».

III.2.1 Les études humaines

Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre l'activité physique et la réduction du risque de développer la MC (Khalili et al., 2013; Persson et al., 1993) ainsi qu'une corrélation inverse avec les marqueurs d'une inflammation de bas grade (Bilski et al., 2014). De plus, chez les patients en rémission, ceux qui ont un plus haut niveau d'activité physique sont moins susceptibles de déclencher une phase active de la maladie à 6 mois (Jones et al., 2015). Malgré les bénéfices de l'activité physique, peu d'études ont analysé l'effet d'un programme d'entraînement sur l'évolution de la pathologie chez l'homme et à l'heure actuelle aucune recommandation n'existe. Les entraînements de type MICT ont montré une amélioration de la qualité de vie des patients, une diminution du stress perçu et

une augmentation de la $VO_2\text{max}$ sans aggravation de la maladie (D'Inca et al., 1999; Loudon et al., 1999; Ng et al., 2007).

III.2.1.1 Entraînement intermittent de haute intensité et composition corporelle

Un entraînement de type HIIT pourrait s'avérer efficace afin de réduire le tissu adipeux « creeping fat » de ces patients. En effet, nous avons précédemment montré l'efficacité à réduire le tissu adipeux viscéral de sujets en surpoids et/ou obèses. Dans certaines études, cette modification apparaît sans modification du poids et/ou de la masse grasse totale (Maillard et al., 2016; Zhang et al., 2015), ce qui est important chez des sujets luttant contre l'amaigrissement et l'anorexie dus à une malnutrition (Knutson et al., 2003; Wiroth et al., 2005). Toutefois, la maladie impactant également les réponses physiologiques à l'effort, les effets sur la composition corporelle peuvent s'avérer différentes. En effet, Nguyen et al. ont montré que des enfants atteints de la MC avaient une contribution des glucides plus élevée pour répondre à la demande énergétique pendant un exercice sous-maximal par rapport à des sujets sains (Nguyen et al., 2013).

III.2.1.2 Entraînement intermittent de haute intensité et état inflammatoire

Bien que l'HIIT comprenne des phases à haute intensité, cette modalité exerce des propriétés anti-inflammatoires (Dorneles et al., 2016; Wadley et al., 2016). A notre connaissance, une seule étude a comparé les effets aigus sur l'inflammation systémique d'une session de type MICT (2x30 minutes à 50% du pic de puissance mécanique aérobie ; W_{pic}) et HIIT (6x 4x [15 s à 100% W_{pic} / 1 min de récupération passive]) chez des enfants atteints de la MC. Le résultat le plus intéressant est que les réponses induites par l'exercice au niveau de l'inflammation systémique étaient similaires aux sujets contrôles et qu'aucune majoration du niveau de TNF- α n'était observée montrant l'innocuité de ces deux modalités d'exercice chez des jeunes enfants. Néanmoins la session de type MICT a engendré une plus grande augmentation des leucocytes, lymphocytes, monocytes, IL-6, IL-17 et de l'hormone de croissance (Ploeger et al., 2012). D'autres études, intégrant des programmes d'entraînement, sont alors nécessaires pour déterminer les effets de différentes modalités chez ces patients. Dans ce contexte, Tew et al. réaliseront le premier protocole chez des adultes ayant une MC inactive ou moyennement active visant à comparer les effets de l'HIIT (10 x 1min à 90% du pic de puissance maximale/1 min de récupération active) vs. ceux du MITCT sur la capacité respiratoire, l'IMC, la qualité de vie, ainsi que les marqueurs de l'activité de la maladie (la

calprotectine fécale et le CDAI (« Le Crohn's Disease Activity Index ») (Study protocol, Tew et al., 2017).

III.2.1.3 Etudes chez les animaux

Dans les modèles animaux d'inflammation intestinale, de nombreuses études ont mis en évidence l'effet anti-inflammatoire d'un exercice volontaire (*i.e.* roue d'activité physique) suite à une inflammation induite chimiquement (Allen et al., 2017c; Bilski et al., 2015; Cook et al., 2013; Kasimay et al., 2006; Mazur-Bialy et al., 2017; Saxena et al., 2012), ou provoquée par une bactérie et/ou ses composants (LPS ou peptidoglycane) (Campos-Rodríguez et al., 2016; Pepler et al., 2017) ou à la suite d'une alimentation riche en graisses (Bilski et al., 2015; Evans et al., 2014; Liu et al., 2015). Le peu d'études ayant utilisé un exercice modéré sur tapis (30 minutes à 20m.min⁻¹ pendant 6 semaines à raison de 5 fois par semaine ou 55min à 18m.m⁻¹ pendant 4 semaines à raison de 5 fois par semaine (Bilski et al., 2015; Saxena et al., 2012) ou en natation (Campos-Rodríguez et al., 2016; Luo et al., 2014), confirme les effets bénéfiques de l'activité physique. En revanche, la comparaison d'un exercice forcé (40min à 8-12m.min⁻¹ pendant 6 semaines, 5 fois par semaine) avec un exercice volontaire, a montré une aggravation des symptômes de la colite tandis que la roue les a atténués (Cook et al., 2013). Un entraînement imposé implique la maîtrise de plusieurs paramètres comme la vitesse et la pente du tapis, la durée d'une séance et du programme d'entraînement. Ces paramètres peuvent également varier selon le type de modèle murin, l'âge, l'environnement et de la souche utilisée.

L'activité physique induit une inflammation pour déclencher les processus inflammatoires mais sur le long terme cela favorise l'amélioration du système anti-inflammatoire, à condition que le programme d'entraînement soit bien structuré et adapté au modèle utilisé.

III.3 Effets de différentes modalités d'exercice sur le microbiote intestinal

Nous avons précédemment vu que l'activité physique, notamment, l'HIIT pouvait diminuer la masse grasse totale, abdominale dont viscérale, cette dernière étant reconnue comme la plus nocive. Toutefois, à l'heure actuelle, les mécanismes sus-jacents restent à élucider. De façon concomitante, un lien a été établi entre la composition du microbiote intestinal et l'excès de tissu adipeux. Dans ce contexte, la modulation du microbiote intestinal

par l'activité physique pourrait faire partie intégrante de la prise en charge des patients obèses et/ou atteints de la MC. De plus, les éventuelles modifications du microbiote intestinal induites par différentes modalités d'exercice pourraient expliquer la perte de masse grasse abdominale dont viscérale supérieure suite à un entraînement de type HIIT.

III.3.1 Etudes humaines

III.3.1.1 Effets de l'exercice lors d'une session

Chez des amateurs, un semi-marathon ne modifie pas l' α -diversité mais provoque un changement au sein des communautés bactériennes, notamment en augmentant la famille des *Coriobacteriaceae* (phylum Actinobacteria). D'un point de vue fonctionnel, il a été montré un effet de l'exercice sur 40 métabolites dont une augmentation des acides organiques (ex : acide shikimique permettant la synthèse d'acides aminés) et une diminution des acides nucléiques (diadénosine pentaphosphate) (Zhao et al., 2018).

III.3.1.2 Comparaison de sujets entraînés vs sujets sédentaires ou effet d'un programme d'entraînement

La comparaison du microbiote intestinal de personnes actives et/ou d'athlètes avec celui de personnes sédentaires a révélé une augmentation de la diversité microbienne chez les sujets pratiquant une activité physique (Clarke et al., 2014). Ces variations peuvent partiellement être expliquées par le pic de la consommation d'oxygène (VO_{2pic}) étant donné que ce dernier est impliqué dans 20% de la variation de la richesse taxonomique (Estaki et al., 2016). Les sujets normo-pondérés et/ou actifs ont une plus grande proportion d'espèces bénéfiques, notamment productrices de butyrate, telles que *Clostridiales*, *Roseburia*, *Lachnospiraceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Faecalibacterium prausnitzii*, et *Akkermansia muciniphila* expliquant alors l'augmentation du taux de butyrate chez ces sujets (Estaki et al., 2016). Tandis qu'un comportement sédentaire peut prédire la composition du microbiote intestinal avec la présence de *Desulfovibrionaeae*, *Paraprevotella*, *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides*, *Enterobacteria* (Bressa et al., 2017; Yang et al., 2017). De façon intéressante, *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides* est positivement associé au pourcentage de masse grasse et négativement au VO_{2max} , mais après ajustement à la masse grasse, le lien avec VO_{2max} disparaît (Yang et al., 2017). L'implication du tissu adipeux dans l'interaction entre l'exercice et le microbiote intestinal est renforcé par les données émanant des deux premières études ayant analysé l'effet d'un entraînement sur la composition du

microbiote intestinal chez l'humain. Chez des femmes pré-ménopausées, il a été montré qu'un programme d'entraînement de 6 semaines (30 à 60 min de 60 à 75 % de la FC de réserve) à raison de 3 fois par semaine, impactait la bêta-diversité et les niveaux d'AGCC de façon IMC dépendant mais indépendamment de l'alimentation. En effet, les changements concernant les taxons producteurs de butyrate (*Faecalibacterium spp.* et *Lachnospira spp.*) ainsi que l'augmentation des AGCC sont plus prononcés chez les sujets minces (Allen et al., 2017). Chez des adultes en surpoids (IMC = 27 kg.m²), un entraînement aérobie (exercice modéré) combiné à du renforcement musculaire (3 séries de 8 répétitions à 70% de 1 RM) durant 8 semaines (3 fois par semaine) diminue la masse grasse (en % et en kg) mais indépendamment de la diversité du microbiote intestinal (bactéries et archaeal) (Cronin et al., 2017). D'un point de vue fonctionnel, chez des sujets actifs, l'étude métagénomique (shotgun) a montré une augmentation des voies métaboliques liées aux acides aminés et glucides, des acides gras à chaîne courtes, et un meilleur « turn over » musculaire (Barton et al., 2017). Enfin il est important de souligner que ces changements induits par l'activité physique sont transitoires (Allen et al., 2017), d'où la nécessité d'adopter une pratique régulière.

III.3.2 Etudes chez les animaux

Contrairement à l'homme, chez les animaux la majorité des études ont analysé l'effet de programme d'entraînement sur la composition du microbiote intestinal (Tableau 8). Le plus souvent un exercice volontaire (roue) est proposé entre 6 jours et 14 semaines. Les modifications du microbiote intestinal par l'activité physique peuvent contrecarrer les effets néfastes d'une alimentation riche en graisses (Evans et al., 2014) et induire une protection suite à une infection induite chimiquement (Allen et al., 2017). Il apparaît également que plus l'animal est jeune, plus les modifications observées sont importantes (Mika et al., 2015), renforçant alors l'intérêt de la pratique d'une activité physique dès le plus jeune âge. Ainsi l'ensemble des études semble en accord sur la capacité de l'activité physique à augmenter la richesse bactérienne ainsi que les bactéries bénéfiques comme les bactéries productrices de butyrate (Codella et al., 2017), se traduisant par une augmentation du butyrate dans les selles (Matsumoto et al., 2008).

Tableau 8 : Effet de l'activité physique sur le microbiote intestinal.

Etudes	Modèle animal	Protocole d'exercice	Méthode d'analyse du microbiote intestinal	Poids	Tissu adipeux	Microbiote intestinal
Matsumoto et al., 2008	Rats Wistars mâle (6 sem) <i>ad libitum</i> standard	Roue 5 semaines	Extraction ADN : x Séquençage : ARNr 16s PCR/TGGE/CEQ8000 ↳ caecum	↓ exercice	x	↑ SM7/11 (Firmicutes), T2-87 (Firmicutes)
Choi et al., 2013	Souris C57BL/6 mâle (11-13 mois) <i>ad libitum</i>	Roue 5 semaines	Extraction ADN : x Séquençage : PhyloChipArray ↳ ?	↓ exercice	x	↑ Lactobacillales (Firmicutes), Bacillales (Firmicutes) ↓ Clostridiales (Firmicutes), Bacteroidales (Bacteroidetes), Erysipelotrichales (Tenericutes)
Queipo-Ortuño et al., 2013	Rats Sprague Dawley mâle (5 sem) <i>ad libitum</i> ou restriction alimentaire	Roue 6 jours	Extraction ADN : QIAamp DNA stool Mini kit Séquençage : V2-V3 regions 16S ARNr PCR-DGGE / qPCR ↳ selles	↑ exercice + <i>ad libitum</i> ↓ exercice + restriction	x	↑ Lactobacillus, Bifidobacterium, B.coccoides-E.rectale group
Petritz et al., 2014	Rat Zucker (obèses), hypertensifs, et Wistar (18 sem) <i>ad libitum</i>	Obèses : 12,5 m.min ⁻¹ hypertensifs et Wistar : 20 m.min ⁻¹ 30 min 5 fois / sem pendant 4 semaines	Extraction ADN : PowerFecal DNA Isolation Kit 16sARNr Séquençage : 454 GS FLX Titanium sequencer platform ↳ selles	x	x	↑ Lactobacillus (obèses), Pseudomonas (obèses), Allobaculum (hypertensif) ↓ Streptococcus (Wistar), Sutterella (hypertensif), Aggregatibacter (hypertensif)

↑ Firmicutes, Lachnospiraceae,
 Peptostreptococcaceae,
 Pseudomonadaceae,
 Cryomorphaceae,
 Phyllobacteriaceae,
 Alcaligenaceae,
 Pseudomonadaceae,
 Rhizobiaceae, Incertae_Sedis_IV,
 Microbacteriaceae,
 Nocardiaceae, Coriobacteriaceae,
 Flavobacteriaceae,
 Sphingobacteriaceae,
 Bradyrhizobiaceae,
 Caulobacteraceae,
 Burkholderiaceae,
 Comamonadaceae

↓ Bacteroidetes, Streptococcus
 (HF), Tenericutes (normal diet),
 Porphyromonadaceae,
 Peptococcaceae,
 Streptococcaceae

↑ Bacteroidetes/Firmicutes,
 Clostridiaceae, Lachnospiraceae,
 Ruminococcaceae, S24-7
 ↓ Actinobacteria,
 Lactobacillaceae,
 Turicibacteraceae,
 Erysipelotrichaceae,
 Bifidobacteriaceae

↓
 exercice
 x

Extraction ADN :
 PowerSoil kit
 Séquençage :
 V3-V ARNr 16S
 Illumina MiSeq
 ↪ selles

habituation : 6-60 min à 3 -7
 m.min⁻¹ pendant 2 semaines
 Roue : 60 min à 7 m.min⁻¹
 5 fois/sem pendant 14
 semaines

Souris C57BL/6
 mâles (8 semaines)
 HF ou standard

Kang et al.,
 2014

↓
 exercice

Extraction ADN :
 phenol:chloroform:isoamyl
 alcohol
 Séquençage :
 ARNr 16S
 Illumina Miseq platform
 qPCR
 T-RFLP
 ↪ selles

Souris C57BL/6
 mâle (5 sem)
 HF / LF
 Roue
 12 semaines

Evans et al.,
 2014

<i>Allen et al., 2015</i>	Souris C57BL/6j mâle (6 sem)	ROUE : 30 jours 40 min à 8-12 m.min ⁻¹ avec 5% pente 5 fois / sem pendant 6 semaines	Extraction d'ADN : Powersoil kit Séquençage : V3 et V5 ARNr 16s Illumina Miseq platform ↳ caecum + selles	NS x	↑ Tenericutes (forcé), Proteobacteria (forcé), Anaerotruncus (roue), Nautilia (forcé), Oscillospira (forcé), Dorea (forcé) ↓ Prevotella (roue)
<i>Liu et al., 2015</i>	Rats OVX - Fortes (H) ou faibles (L) capacités à courrir (27 semaines) HF	Roue 11 semaines	Extraction d'ADN : Mo-Bio PowerSoil kits Séquençage : ARNr 16s Illumina Miseq ↳ caecum	↓ L & ↑ H MG totale (DXA) ↓ L & ↑ H	↑ Proteobacteria (L) ↓ (H) ↑ Cyanobacteria (L) ↓ (H) ↑ Helicobacteraceae (L) ↓ (H) ↑ Desulfotribionaceae (L) ↓ (H) ↓ Firmicutes (L) & ↑ (H) ↓ Ruminococcaceae (L) & ↑ (H) ↓ Christensenellaceae (L) & ↑ (H) ↓ Helicobacter (H)
<i>Mika et al., 2015</i>	Rats Fischer F344 mâle (24 ou 70 jours) <i>ad libitum</i> standard	Roue 6 semaines	Extraction d'ADN : x Séquençage : V4 ARNr 16s Illumina Genome Analyzer IIx ↳ selles	↑ jeunes ↓ adultes ↓ adultes (poids des tissus)	↑ bacteroidetes (jeunes) ↑ Blautia spp. (jeunes) ↑ Turicibacter spp. (adultes) ↑ Anaerostipes spp. (jeunes) ↑ Methanospaera spp. (jeunes) ↓ Firmicutes (jeunes) ↓ Desulfotribionaceae (jeunes) ↓ Rikenellaceae g (jeunes) & ↑ (adultes)
<i>Lambert et al., 2015</i>	Souris <i>db/db</i> et <i>db/+</i> mâle (6 sem) alimentation standard	<i>db/db</i> : 66 min à 2,87 m.min ⁻¹ <i>db/+</i> : 60 min à 4,79 m.min ⁻¹ 5 fois / sem pendant 6 semaines	Extraction d'ADN : FastDNA Spin Kit for Feces Séquençage : ARNr 16s qPCR SYBR Green ↳ caecum	x	↑ Lactobacillus spp., Clostridium leptum (C-IV), Clostridium cluster (C-I), Bifidobacterium spp. (non diabétiques) ↓ Enterobacteriaceae (souris diabétique), Methanobrevibacter spp.

<i>Denou et al., 2016</i>	Souris C57BL/6 mâle (8 sem) HF	HIIT : 60 min : 2' à 17 à 22 m.min ⁻¹ avec 5% de pente (100% vitesse maximale de course) / 2' repos passif 3 fois / sem pendant 6 semaines (après 6 sem de HF)	Extraction d'ADN : Séquençage : V3 ARNr 16s ↳ intestin et selles	NS	Epididymal : NS	↑ Bacteroidetes/Firmicutes (cecum+selles), Bacteroidetes (cecum + colon), Actinobacteria (duo/jei), Lactobacillus (iléon), Bacteroidales (cecum et colon), Dorea (cecum et colon) ↓ Clostridium (colon), Clostridiaceae (cecum), Lachnospiraceae (colon)
<i>Welly et al., 2016</i>	Rats sujets obésité mâle (4sem) HF	Roue 14 semaines	Extraction d'ADN : PowerSoil kits Séquençage : V4 ARNr 16s ↳ ceacum	↓	↓ sous-cutané, rétro-péritonéal, omental et épидидymal	↑ Streptococcaceae ↓ S24-7, Rikenellaceae
<i>Batacan et al., 2017</i>	Rats Wistar mâle (12 semaines) HF ou standard	MICT : 125 min à 8 m.min ⁻¹ sur une pente à 0% (~ 40-50% VO ₂ max)(divisé en 30-30-30-35 min avec 2h de repos entre chaque série) HIIT: 4x (2.5 min à 50 m.min ⁻¹ [(>90% of VO ₂ max)]/3' R passif sur une pente à 10% 5 fois/sem pendant 12 semaines	Extraction d'ADN : Bioline Isolate Fecal DNA kit Séquençage : V3-V4 ARNr 16s ↳ Selles	NS	x	Régime standard : ↑ Parasutterella excrementihominis (MICT), Lactobacillus johnsonii (MICT), Clostridium saccharolyticum (HIIT), Clostridium geopurificans (HIIT et MICT)
<i>Lee et al., 2017</i>	Rats wistars mâle et femelles (7 sem) HF/HS ou HCS	Roue 4 semaines	Extraction d'ADN : DNeasy kit Séquençage : ARNr 16s ↳ Selles	↓ mâles	x	↑ Akkermansia muciniphila, Blautia sp, Bacteroides sp ↓ Oscillospira, S24-7

<i>Allen et al., 2017</i>	Souris C57BL/6 mâle (6 sem) <i>ad libitum</i> standard	Roue 6 semaines	Extraction d'ADN : PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit Séquençage : V4 ARNr 16s Illumina ↳ Selles	x	x	↑ Anaerostipes, Akkermansia spp, Lachnospiraceae, Ruminococcus spp, Parabacteroides spp ↓ Prevotella
<i>Lamoureux et al., 2017</i>	Souris C57BL/6 mâle (6 à 10 sem) <i>ad libitum</i> standard	Roue Exercice forcé : 40 minutes 15 à 20 m.min ⁻¹ 5 fois par semaines (6 semaines) Exercice spontané (55 jours)	Extraction d'ADN : PowerFecal DNA isolation kit Séquençage : V6-V8 ARNr 16s Illumina ↳ Selles	NS	↓ MG (DXA)	A et β diversité : NS, mais « random forest machine learning model » : <i>Bacteroides</i> , S24-7, lactobacillus, Rikenellaceae et <i>Lachnospiraceae</i> sont associés à l'exercice
<i>Liu et al., 2017</i>	Souris C57BL/6j mâle (4 sem) <i>ad libitum</i> standard	30 min/jour à 12-15 m.min ⁻¹ 4 semaines	Extraction d'ADN : Fecal Total DNA EXTRACT kit Séquençage : V4 ARNr 16s Illumina HiSeq 2000 ↳ Selles	x	x	↑ Butyricimonas, Akkermansia
<i>McCabe et al., 2018</i>	Souris C57BL/6 mâles (6 semaines) HF ou standard	Roue 14 semaines	Extraction d'ADN : phenol:chloroform:isoamyl alcohol Séquençage : 16S rRNA MiSeq Illumina ↳ Selles	↓ exercice	↓ exercice epididymal	↓ Firmicutes/Bacteriodetes ratio

DGGE: Denaturing gradient gel electrophoresis; DXA: Dual-energy X-ray absorptiometry; HF: High fat; HCS: High corn starch diet; LF: Low fat; MG: masse grasse; R: Récupération; RLFP: Restriction fragment length polymorphism; Sem: Semaines; TGGE: Temperature gradient gel electrophoresis.

Toutefois, il est important de souligner qu'un entraînement volontaire et imposé modifie de façon différente le microbiote intestinal (Allen et al., 2015). Le niveau de capacité physique est aussi un paramètre important puisque des effets inverses sont observés sur la composition du microbiote intestinal et la composition corporelle (Liu et al., 2015). Si une étude a montré de légères différences entre un entraînement de type HIIT et MICT (Batacan et al., 2017), l'effet de différentes modalités d'exercice sur le microbiote intestinale nécessite de futures investigations. En effet, la variation des modifications selon l'échantillon analysé (selles, ceacum, duodénum, jéjunum, iléon et colon) ainsi que les méthodes extraction de l'ADN et de séquençage différentes sont une limite à l'interprétation et la comparaison des études. Cette hétérogénéité, peut aussi expliquer les réponses différentes entre les études, notamment au niveau de deux des phyla majeurs, Firmicutes et Bacteroidetes, parfois augmentés ou diminués (Choi et al., 2013; Evans et al., 2014; Lambert et al., 2015).

III.3.3 Les mécanismes impliqués dans les effets de l'activité physique sur le microbiote intestinal

Les mécanismes sont schématisés dans la figure 15.

L'augmentation de la richesse microbienne pourrait être en partie expliquée par le manque d'oxygène au niveau de l'intestin lors d'un exercice. En effet, le sang est dirigé en priorité vers le muscle afin de l'approvisionner en oxygène et nutriments et cela au détriment des autres organes (Peters et al., 2001). L'hypoxie ainsi induite au niveau intestinal serait propice à la croissance bactérienne. L'hyperhémie, ischémie, et l'hypoperfusion lors d'un exercice intense causent une augmentation des ROS « reactive oxygen species » et la réduction des jonctions serrées provoquant une translocation du LPS (pour revue voir Cerdá et al., 2016). Toutefois, il est important de rappeler que l'exercice aigu induit une inflammation permettant la mise en place du système anti-inflammatoire. Ainsi sur le long terme, l'entraînement est reconnu comme étant anti-inflammatoire. Dans ce contexte, le stimulus induit sur les jonctions pourrait *in fine* s'avérer bénéfique. L'exercice modéré est aussi connu pour augmenter le transit intestinal (De Schryver et al., 2005; Peters et al., 2001) ce qui peut influencer la composition du microbiote intestinal. En effet, certaines bactéries ont la capacité de survivre dans un milieu restreint en eau ou dans lequel la disponibilité des nutriments fluctue tandis que d'autres peuvent s'accrocher aux tissus ou possèdent un taux élevé de croissance (Vandeputte et al., 2016). Par exemple, la consistance « ferme » des selles

est associée à la richesse microbienne avec la présence d'*Akkermensia* alors que des selles « molles » contiennent plus de *Bacteroidetes* (Vandeputte et al., 2016). Un transit accéléré permet également de réduire le temps de contact entre les pathogènes et la muqueuse intestinale (Bermon et al., 2015).

L'augmentation des concentrations de butyrate peut être due à l'augmentation du flux d'énergie mettant à disposition des métabolites endogène (*i.e.* lactate), une augmentation de la fermentation bactérienne favorisée par des variations oxygène et du pH ou une augmentation des bactéries productrices de butyrate (Charrier et al., 2006). Comme nous l'avons expliqué précédemment, le butyrate interagit avec PGC1-alpha / AMPK induisant alors la biogénèse mitochondriale. De plus, le Butyryl CoA : Acetate CoA transférase (BCoAT), augmenté lors d'un entraînement (Allen et al., 2017), permet la formation d'acetyl CoA et du butyrate, deux substrats utilisés impliqués dans la production d'énergie (Charrier et al., 2006). La demande supérieure en énergie lors d'une activité physique justifierait l'accroissement particulier de ces bactéries et de gènes impliqués dans la production du butyrate.

Dans la littérature il est mentionné que l'exercice de haute intensité et/ou de longue durée induit une ischémie au niveau de l'intestin pouvant augmenter la perméabilité intestinale (quand au moins 50% du débit sanguin est réduit (Haglund, 1994)). Ce phénomène est appelé « leaky gut ». Toutefois, la perméabilité intestinale est de 1,5 à 3 fois plus importante chez les sportifs de haut niveau que chez les amateurs (de Oliveira et Burini, 2009) et de nombreuses stratégies sont développées pour contrer ce trouble chez les athlètes d'élite (Jeukendrup, 2017). Il est alors important de dissocier les effets observés entre des athlètes et des sujets pathologiques. Pour les patients, les programmes d'activité physique doivent être adaptés dans un but thérapeutique et non de performance.

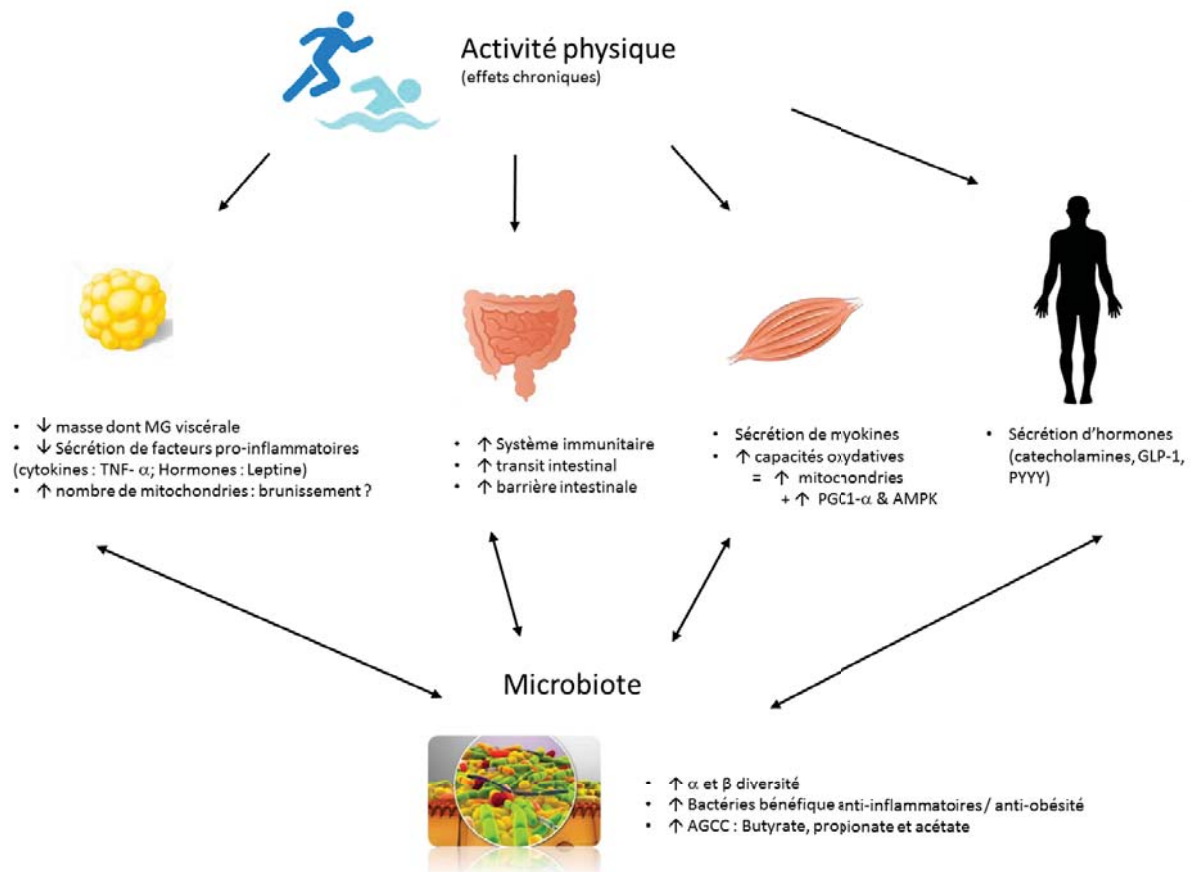


Figure 15 : Mécanismes impliqués dans la modification du microbiote intestinal suite à un entraînement.

MESSAGES A RETENIR - PARTIE III

- ✓ Traditionnellement le MICT est recommandé pour la perte de MG chez des sujets en surpoids et/ou obèses.
- ✓ Récemment le HIIT s'est avéré plus efficace pour réduire la MG totale, abdominale et viscérale.
- ✓ L'activité physique (AP) est associée à une diminution du risque de développer la MC.
- ✓ Peu d'études ont analysé l'effet d'un entraînement chez les patients atteints de la MC que ce soit en prévention primaire ou secondaire.
- ✓ Des études fondamentales montrent un effet protecteur de l'AP (une AP volontaire dans la majorité des travaux) vis-à-vis d'une inflammation induite chimiquement, ou par un régime riche en graisses.
- ✓ L'AP peut moduler le microbiote intestinal en favorisant les genres associés à un profil non pathologique.
- ✓ L'AP favorise la production des AGCC, ayant des propriétés anti-inflammatoires et pouvant impacter le tissu adipeux.
- ✓ L'effet des différentes modalités d'exercice reste à démontrer dans l'interaction entre le tissu adipeux et le microbiote intestinal.

Objectifs et hypothèses

Présentation des objectifs et hypothèses

Compte tenu de la revue de littérature exposée précédemment, les objectifs principaux de ce travail de thèse étaient (Figure 16) :

1. D'étudier l'influence de différentes modalités d'exercice sur la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale chez des sujets en surpoids et/ou obèses et tout particulièrement des femmes diabétiques de type 2 ménopausées, sujets à risque de pathologies cardiovasculaires. Plus précisément, nous désirions comparer un programme intermittent de haute intensité (HIIT) avec un entraînement plus classique d'endurance (entraînement continu d'intensité modéré- MICT).
2. De juger de l'effet préventif et/ou de l'efficacité de différentes modalités d'exercice sur l'interaction « microbiote - tissu adipeux » dans un contexte de pathologies inflammatoires chroniques sur des modèles murins. Ce second objectif avait pour but de démontrer que la perte de masse grasse (totale et viscérale) induite par l'entraînement pouvait être corrélée à une modification de la composition du microbiote.

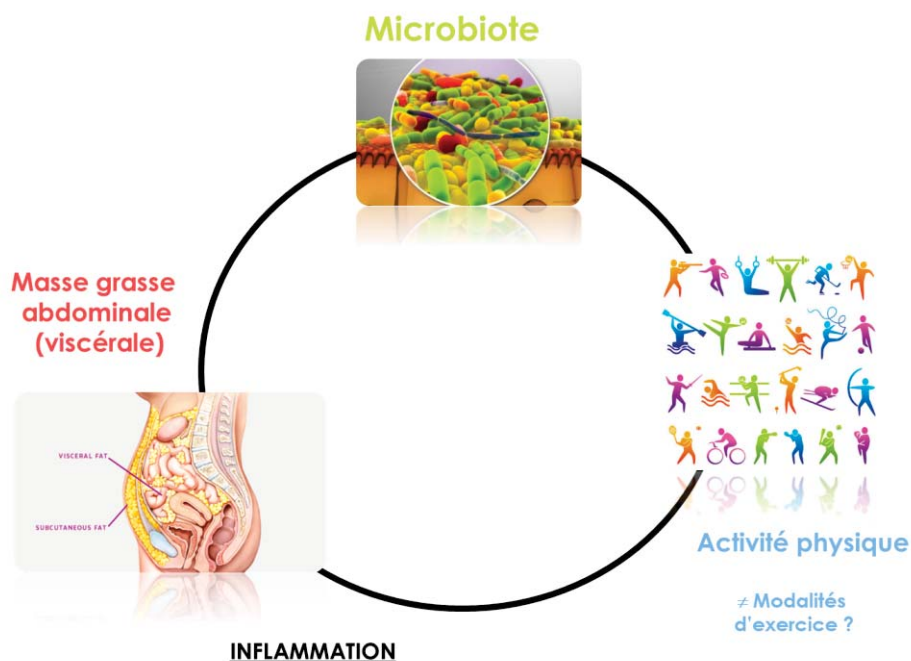


Figure 16 : Schéma illustrant les hypothèses de ce travail de thèse.

Les études expérimentales de ce travail de thèse se subdiviseront en deux parties dissociant a) une étude clinique et b) des études expérimentales chez l'animal, dans un objectif de recherche translationnelle, afin d'observer les effets de différents programmes d'entraînement sur la perte de masse grasse (totale, abdominale et viscérale) et de comprendre les mécanismes à l'origine de telles adaptations en émettant l'hypothèse d'une interaction « tissu-adipeux/microbiote ».

PARTIE CLINIQUE

Le premier objectif de ce travail était d'évaluer l'efficacité d'un entraînement intermittent de haute intensité (HIIT) sur la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2. Nous émettions l'hypothèse, en lien avec la littérature, qu'un entraînement de type HIIT serait plus efficace pour réduire la masse grasse totale, abdominale et viscérale qu'en entraînement classique en endurance.

⇒ *Etude clinique*

Objectif 1 : Comparer l'effet de deux entraînements de 16 semaines, à savoir un entraînement intermittent de haute intensité (HIIT) et un entraînement continu d'intensité modérée (MICT), sur la perte de masse totale et abdominale (dont viscérale) chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2.

Hypothèse 1: L'entraînement HIIT serait plus efficace pour diminuer la masse grasse totale, abdominale et viscérale qu'un entraînement en endurance traditionnel.

Objectif 2 : Comparer, en « cross-over » (croisement population/modalité) après un « wash-out » de 6 mois, les effets de chaque modalité sur la perte de masse totale et abdominale (dont viscérale) afin de s'affranchir de potentielles variabilités intra-individuelles.

Hypothèse 2 : Les résultats en « cross-over » devraient renforcer notre hypothèse 1, à savoir que, sur un même sujet, l'entraînement HIIT serait plus efficace qu'un entraînement en endurance traditionnel pour diminuer la masse grasse totale, abdominale et viscérale.

⇒ En complément de ce travail clinique, une méta-analyse a été réalisée sur les effets de l'HIIT sur la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale.

Objectifs : L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité du HIIT pour réduire la masse grasse totale, abdominale et viscérale chez des sujets adultes normo-pondérés, en surpoids et/ou obèses. Dans un second temps, l'influence de la modalité du HIIT (bicyclette vs. course à pied, intensité moyenne), du sexe, du statut pondéral, et de la méthode de mesure de la composition corporelle ont été analysés.

PARTIE FONDAMENTALE :

Afin de pouvoir expliquer d'un point de vue mécanistique les résultats issus de notre étude clinique, nous avons dans un deuxième temps étudié l'effet de différentes modalités d'entraînement sur deux modèles murins caractérisés par une masse grasse viscérale importante :

- un modèle d'obésité génétique (rat Zucker *fa/fa*)
- un modèle mimant la maladie de Crohn (souris CEABAC10 nourries avec un régime riche en graisses et sucres et exposées à la bactérie *Escherichia coli* Adhérente-Invasive (AIEC) LF82

Objectif : l'objectif de ce travail était de montrer l'effet bénéfique de l'exercice (en prévention primaire ou secondaire) sur l'évolution de la masse grasse totale et viscérale dans des modèles murins de pathologies inflammatoires chroniques (obésité et maladie de Crohn).

Hypothèse : dans ces deux modèles, nous avons émis l'hypothèse que la modification du microbiote intestinal pourrait potentiellement être corrélée à la diminution de la masse adipeuse totale et viscérale induite par l'entraînement.

En s'appuyant sur la littérature précédemment développée et démontrant un effet bénéfique de l'exercice chronique sur la perte de tissu adipeux ainsi que sur la composition du microbiote intestinal, cette hypothèse sera testée dans nos deux modèles d'étude. Nous comparerons tout d'abord sur notre modèle d'obésité (rat Zucker *fa/fa*) les mêmes modalités d'exercices que celles testées dans notre étude clinique (MICT et HIIT) en jugeant de leurs effets sur la perte de masse grasse totale et viscérale et sur l'évolution concomitante de la

composition du microbiote. Concernant notre modèle murin (CEABAC10) mimant l'inflammation intestinale de la maladie de Crohn, nous souhaitons juger de l'effet préventif de l'exercice spontané sur le développement du tissu adipeux viscéral suite à l'exposition à deux facteurs impliqués dans la pathologie (AIEC LF 82 et un régime de type occidental).

⇒ *Etude obésité*

Objectif : Comparer l'impact de deux modalités d'entraînement, continu d'intensité modérée (MICT) versus intermittent de haute intensité (HIIT) sur « l'interaction microbiote intestinal - tissu adipeux » chez des rats Zucker mâles.

Hypothèse 1: Les rats ayant réalisé la modalité HIIT auraient une masse grasse viscérale plus faible par rapport aux groupes MICT et contrôle.

Hypothèse 2: Cette quantité de masse grasse totale et viscérale inférieure dans le groupe HIIT serait corrélée à une modification favorable du microbiote intestinal (richesse, diversité et phyla spécifiques).

Hypothèse 3: *In fine*, l'HIIT serait plus efficace que le MICT pour améliorer les profils inflammatoires et métaboliques.

⇒ *Etude maladie de Crohn*

Objectif : Analyser l'effet préventif de l'exercice chronique sur « l'interaction microbiote intestinal - tissu adipeux » de souris CEABAC10 mâles suite à une exposition bactérienne et un régime riche en graisses et en sucres.

Hypothèse 1 : Les souris ayant été les plus actives (parcouru une plus grande distance et/ou ayant été les plus rapides) auraient une masse grasse totale et viscérale plus faible.

Hypothèse 2 : Ces adaptations engendrées par l'activité physique spontanée régulière pourraient être corrélées à une évolution favorable du microbiote intestinal (richesse, diversité et phyla spécifiques).

Travail expérimental

I Axe d'étude n°1 : Etudes cliniques : HIIT et perte de masse grasse

Comparer l'effet de deux entraînements, à savoir un entraînement intermittent de haute intensité (HIIT) et un entraînement continu d'intensité modérée (MICT), sur la perte de masse totale et abdominale (dont viscérale) chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2.

I.1 Méthodologie

Cette étude a été approuvée par le Comité de Protection des Personnes Sud Est (VI, CPPAU814) et a été enregistrée sur ClinicalTrials.gov (ClinicalTrials.Gov: NCT 02352246). Après avoir pris connaissance des informations détaillées sur les objectifs et le protocole de l'étude, chaque participante a signé un consentement écrit.

I.1.1 Sujets : Femmes ménopausées en surpoids ou obèses, diabétiques de type 2.

A la ménopause, la baisse du niveau d'estrogènes est propice au stockage des graisses au niveau abdominal dont viscéral majorant ainsi le risque de développer des maladies cardiovasculaires. La présence d'un diabète de type 2 accentue ce risque.

Vingt femmes âgées de 61 à 80 ans ont été recrutées dans une Association française de diabétiques en Auvergne (AFD63). Le temps moyen écoulé depuis la détection du diabète de type 2 était de $14,5 \pm 2,1$ ans. Les principaux critères d'inclusion étaient: (a) femmes ménopausées, (b) diabétiques de type 2, (c) indice de masse corporelle (IMC) $> 25 \text{ kg} / \text{m}^2$ et $\leq 40 \text{ kg} / \text{m}^2$, (d) comportement alimentaire et activité physique stables durant les 3 derniers mois. Les critères d'exclusion étaient les suivants: a) contre-indications médicales pour pratiquer des activités physiques intenses, b) articulations douloureuses ou c) hormonothérapie substitutive. Finalement, 17 femmes ménopausées atteintes de DT2 ont été sélectionnées pour les deux programmes d'intervention de 16 semaines (Figure 17). Aucune des participantes n'avaient d'antécédents de maladies artérielles, cardiovasculaires, respiratoires chroniques ou d'autres troubles endocriniens, à l'exception du DT2. Toutes les femmes étaient sous médication : 9 avec des biguanides, 4 avec des biguanides associés à des glinides ou des inhibiteurs de DPP-4, 2 avec des biguanides, des inhibiteurs de DPP-4 et des sulfonamides et 2 avec des biguanides et des injections d'insuline (levemir ou novorapid). Bien que toutes les participantes aient rapporté un faible niveau d'activité physique (voir les résultats du questionnaire IPAQ), elles allaient toutes (depuis au moins un an) dans un centre de fitness (1 heure, deux fois par semaine) avant le début du protocole. Cette activité a été

proposée par l'association française diabétique (AFD63) et comprenait une bicyclette de 10 min, un entraînement de résistance de 20 min et un étirement de 10 min.

Comme l'âge, la forme physique et la distribution de masse grasse peuvent modifier l'oxydation des lipides (Isacco et al., 2013), les participantes ont été subdivisées en deux groupes appariés selon l'âge, la puissance maximale aérobie théorique (PM_{At} = 3 watts par kilogramme de masse maigre) et le rapport entre la masse grasse abdominale, située entre les corps vertébraux T12-L1 et L4-L5 (Glickman et al., 2004) et la masse grasse gluéto-fémorale, déterminée à partir de la crête iliaque jusqu'aux extrémités inférieures incluses (Isacco et al., 2013). Ensuite, les sujets ont été répartis au hasard en deux groupes : HIIT (n = 8) ou MICT (n = 9) afin de réaliser les 16 semaines d'entraînement (S0→S16).

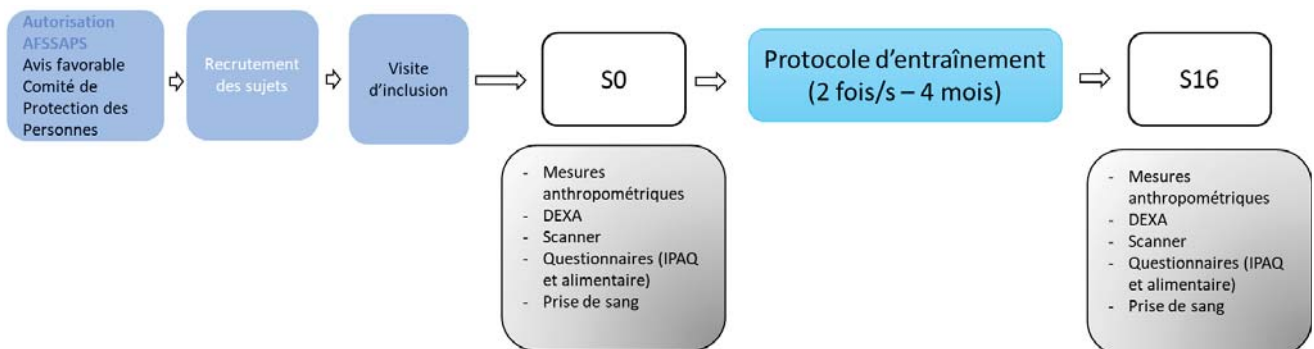


Figure 17 : Schéma du protocole de l'étude clinique 1

1.1.2 Protocole d'entraînement

Les participantes ont réalisé deux sessions d'exercice par semaine pendant 16 semaines. Pour permettre une récupération suffisante, les deux sessions avaient lieu le mardi et jeudi (entre 14h30 et 16h). L'entraînement a été réalisé sur des bicyclettes de type fitness (C Max Club, France) et était supervisé par un professeur d'activités physiques adaptées. Dans les deux groupes, l'entraînement comprenait 5 minutes d'échauffement et 5 minutes de récupération sur vélo, avec une résistance librement choisie. A chaque séance, la pression artérielle et la glycémie (Glucometer, Accucheck Performa, Roche Diagnostics) étaient contrôlées. Pour quatre sujets, la dépense énergétique (DE) sur chaque modalité (HIIT et MICT) a été mesurée une semaine avant le début du programme via un dispositif de recherche qui détermine la DE à partir d'un accéléromètre, de la température du corps, du flux de chaleur, de l'impédance et des caractéristiques individuelles des sujets (âge, sexe, poids, taille,

fumeur ou non-fumeur, gaucher ou droitier) (SenseWear® MF Armband). La DE par session n'était pas différente entre les modalités (262 ± 58 kcal pour HIIT et 240 ± 58 kcal pour MICT).

I.1.2.1 Entraînement intermittent de haute intensité (HIIT)

Le programme d'HIIT, basé sur le protocole de Trapp et al., apparait comme un programme attractif et réalisable pour des femmes sédentaires de plus de 60 ans. Le protocole HIIT consistait à répéter des cycles de 8s à haute intensité (environ à 80% FC_{max}) suivi d'une récupération active où le sujet pédalait lentement (20-30rpm) pendant 12s (maximum de 60 cycles pour une session de 20 min) (Trapp et al., 2008). La résistance choisie était très faible et identique pour chaque participante (proche de zéro) afin de faciliter l'accélération et de limiter l'inertie de la bicyclette. Après 3 ou 4 sessions, toutes les femmes étaient capables de réaliser les 20 minutes d'entraînement. La FC moyenne a été enregistrée au début, au milieu et à la fin de l'étude (semaine 2, 8 et 15). L'HIIT a généré une FC moyenne comprise entre 77 et 85% de la FC max estimée ($EstFC_{max} = 208 - 0,7 \times \text{âge}$) (Tanaka et al., 2001). A la fin des 20 minutes, un temps de récupération actif supplémentaire de 5 minutes était prévu avant de descendre de bicyclette.

I.1.2.2 Entraînement continu d'intensité modérée (MICT)

Les femmes du groupe MICT pédalaient à 55-60% de leur fréquence cardiaque de réserve (FCR) pendant 40 min. La FC cible était déterminée à partir de la FC max estimée (voir ci-dessous) et la FC de repos (FC_{repos}) :

- FC cible $_{55\% FCR} = (EstFC_{max} - FC_{repos}) * .55 + FC_{repos}$ et,
- FC cible $_{60\% FCR} = (EstFC_{max} - FC_{repos}) * .60 + FC_{repos}$.

Durant les deux premières semaines, la durée de l'exercice était graduellement augmentée pour atteindre 40 minutes de vélo par session. En raison d'une potentielle amélioration de la condition physique, la FC cible a été recalculée au bout de deux mois de protocole.

I.1.3 Mesures anthropométriques

Le poids (kg) a été mesuré avec une précision de 0,1 kg via un pèse-personne (Seca 709, France). Les sujets étaient en sous-vêtements et à jeun. La taille a été mesurée avec une précision de 0,5 cm via une toise murale. L'indice de masse corporelle (IMC) a été calculé

comme le poids (kg) divisé par la taille au carré (m²). Le tour de taille (cm) a été mesuré à mi-hauteur entre la dernière côte et l'extrémité supérieure de la crête iliaque. Le tour de hanche a été déterminé au niveau des têtes du fémur. Les deux mesures ont été réalisées en position debout avec un mètre ruban. Le diamètre sagittal (hauteur abdominale) a été déterminé avec une précision au millimètre à l'aide d'une pince sagittale (Holtain-Kahn Abdominal Caliper) pendant une expiration normale. L'épaisseur moyenne du pli cutané abdominal a été mesurée à l'aide d'une pince Harpenden (Skinfold Caliper) à partir de 4 sites (12 cm et 7 cm à droite ou à gauche du nombril) (Martin and Jensen, 1991). Toutes les mesures anthropométriques ont été réalisées par le même expérimentateur au début et après 16 semaines d'entraînement.

1.1.4 Composition corporelle

La masse grasse totale et segmentaire aussi bien que la masse maigre (exprimée en kg et en % du poids) ont été mesurées via un appareil d'*absorptiométrie* biphotonique à rayons X (Dual-Energy X-ray Absorptiometry scanner- DXA) (QDR-4500A from Hologic, Inc., Waltham, MA). De plus, deux régions ont été manuellement isolées et analysées par un technicien expérimenté :

- MG abdominale totale : L1-L2 au pubic rami (pubis);
- MG partie inférieure du corps : Crête iliaque jusqu'aux extrémités inférieures incluses

Toutes les analyses ont été réalisées par le même opérateur. La masse grasse viscérale totale (kg) a été estimée à partir de la MG abdominale (DXA data), l'épaisseur du pli sous cutané moyen et de la hauteur abdominale, comme décrit précédemment (Martin and Jensen, 1991). Pour le groupe HIIT uniquement, la masse grasse viscérale (g) a aussi été mesurée au niveau L4-L5 par scanner (Siemens Somatom AS 64 scanner, Erlangen, Germany) selon la méthodologie décrite par Sottier et al. (2013). Les images obtenues ont été analysées par un ingénieur expérimenté.

1.1.5 Niveau d'activité physique

Durant la période de l'étude, les participantes devaient maintenir leur niveau classique d'activité physique. Au début et après 16 semaines d'entraînement, le niveau d'activité physique a été évalué via le questionnaire IPAQ (version française) (Craig et al., 2003).

1.1.6 Paramètres sanguins

Les dosages ont été réalisés la semaine avant le commencement du protocole (S0) et 3 à 5 jours après la dernière session du protocole (S16) pour éviter les effets potentiels de la dernière session d'exercice sur les résultats. Après une nuit à jeun, une canule a été insérée dans la veine antécubitale et le sang a été récolté dans des tubes contenant de l'EDTA et du fluorure. La concentration plasmatique du cholestérol total, des lipoprotéines de haute densité (HDL), et des triglycérides (TG) a été immédiatement mesurée via un appareil (Synchron DxC Beckman Coulter). Les lipoprotéines de basse densité (LDL) ont été indirectement quantifiées en utilisant l'équation décrite par Friedewald et al. (1972). La concentration plasmatique du glucose a été immédiatement déterminée à partir d'une hexokinase et d'un appareil Synchron DxC Beckman-Coulter apparatus. Pour finir, le pourcentage d'HbA1C a été évalué sur analyseur HPLC Variant II équipé avec le 270-2101 NU Kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

1.1.7 Analyses statistiques

Le logiciel Statistica (version 8.00, USA) a été utilisé. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm erreur standard à la moyenne (SEM). La distribution normale des données a été testée via le test de Kolmogorov–Smirnov et l'homogénéité de la variance via le F-test. Une ANOVA à deux voies à mesures répétées a été utilisée pour déterminer les éventuels effets groupe (G) et temps (T) ainsi que les interactions groupe x temps (GxT). Quand une significativité apparaissait, le post hoc à comparaison multiple Newman–Keuls était utilisé. Les deltas de variation $(S16 - S0 / S0) \times 100$ ont aussi été comparés entre les groupes à l'aide du test paramétrique de Mann & Whitney. Le test de Wilcoxon Signed-Rank a permis l'analyse des données issues du scanner pour le groupe HIIT. Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour tester différentes relations entre les variables. La significativité a été fixée pour des valeurs de $p \leq 0.05$.

Publication n°1



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en

Diabetes
& *Metabolism*

Diabetes & Metabolism xxx (2016) xxx–xxx

Original article

High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes

F. Maillard^a, S. Rousset^{b,h}, B. Pereira^c, A. Traore^d, P. de Pradel Del Amaze^e,
Y. Boirie^{b,f,g,h}, M. Duclos^{b,g,h,i}, N. Boisseau^{a,h,*}

^a *Laboratory of the Metabolic Adaptations to Exercise under Physiological and Pathological condition (AME2P), Blaise-Pascal University, EA 3533, 63000 Clermont-Ferrand, France*

^b *INRA, Human Nutrition Unit UMR1019, Clermont-Ferrand, France*

^c *University Hospital Clermont-Ferrand, Biostatistics Unit (DRCI), 63000 Clermont-Ferrand, France*

^d *INRA, QuaPA – UR 0370, plateforme de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques (RMSB), 63122 Saint-Genes-Champanelle, France*

^e *Scanner-IRM 63, 63000 Clermont-Ferrand, France*

^f *Department of Human Nutrition, Clermont-Ferrand University Hospital, G.-Montpied Hospital, 63000 Clermont-Ferrand, France*

^g *UFR Medicine, University Clermont 1, 63000 Clermont-Ferrand, France*

^h *CRNH-Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand, France*

ⁱ *Department of Sport Medicine and Functional Explorations, Clermont-Ferrand University Hospital, G.-Montpied Hospital, 63000 Clermont-Ferrand, France*

Received 26 April 2016; received in revised form 20 June 2016; accepted 14 July 2016

Abstract

Aim. – This study compared the effect of high-intensity interval training (HIIT) and moderate-intensity continuous training (MICT) for 16 weeks on whole-body and abdominal fat mass (FM) in postmenopausal women with type 2 diabetes (T2D).

Methods. – Seventeen women (69 ± 1 years; BMI: 31 ± 1 kg.m⁻²) were randomly assigned to either a HIIT [$60 \times (8$ s at 77 – 85% HR_{max}, 12 s of active recovery)] or MICT (40 min at 55 – 60% of their individual HRR) cycling program for 16 weeks, 2 days/week. Dual-energy X-ray absorptiometry was used to measure whole-body and regional FM content, including abdominal adiposity and visceral adipose tissue. Plasma cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, glucose and HbA_{1c} levels were measured. Levels of nutritional intake and physical activity were evaluated by 7-day self-reports.

Results. – Dietary energy (caloric) intake, physical activity level and total body mass did not vary in either group from the beginning to the end of the training intervention. Overall, total FM decreased and total fat-free mass significantly increased over time (by around 2–3%). Total FM reduction at the end of the intervention was not significantly different between groups. However, significant loss of total abdominal ($-8.3 \pm 2.2\%$) and visceral ($-24.2 \pm 7.7\%$) FM was observed only with HIIT. Time effects were noted for HbA_{1c} and total cholesterol/HDL ratio.

Conclusion. – With no concomitant caloric restriction, an HIIT program in postmenopausal women with T2D (twice a week for 16 weeks) appeared to be more effective for reducing central obesity than MICT, and could be proposed as an alternative exercise training program for this population.

© 2016 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Body composition; Health; Menopause; Physical activity; Type 2 diabetes

Abbreviations: HIIT, high-intensity interval training; MICT, moderate-intensity continuous training; DEXA, dual-energy X-ray absorptiometry; FM, fat mass; FFM, fat-free mass; T2D, type 2 diabetes; HR, heart rate; HRR, heart rate reserve; IPAQ, International Physical Activity Questionnaire.

* Corresponding author at: Laboratory of the Metabolic Adaptations to Exercise under Physiological and Pathological conditions (AME2P), BP 80026, 63171 Aubière cedex, France. Tel.: +33 4 73 40 55 19.

E-mail address: Nathalie.BOISSEAU@univ-bpclermont.fr (N. Boisseau).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabet.2016.07.031>

1262-3636/© 2016 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Maillard F, et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabet.2016.07.031>

1. Introduction

According to the International Diabetes Federation, diabetes currently affects 382 million people worldwide. Type 2 diabetes (T2D) is the most prevalent form (comprising 85–95% of the diabetic population). Overweight and obesity are major risk factors for a number of chronic diseases, including T2D; however, T2D prevalence is also related to the current increase in sedentary lifestyles and physical inactivity [1]. Whole-body fat and visceral adipose tissue (VAT) accumulation are associated with an increased risk of cardiovascular disease (CVD) in patients with T2D [2]. Compared with men and postmenopausal women, premenopausal women are more prone to accumulate fat in the gluteal–femoral region [3], which is protective against the risks of CVD. On the other hand, the hormonal and metabolic changes induced by menopause are followed by fat redistribution towards the upper body, including the abdominal area [4]. Although the mechanisms by which menopause decreases protection against accumulation of abdominal subcutaneous and visceral fat have not been fully elucidated, oestrogen deficiency seems to play a crucial role, as demonstrated by the lower abdominal fat gain seen in women taking hormone-replacement therapy (HRT) [5].

Due to the combined effects of age, T2D and visceral obesity, postmenopausal diabetic women are more at risk of CVD [6]. In such a population, effective strategies to lose weight and reduce total fat mass (FM) and VAT are essential for limiting such complications. While caloric restriction is an efficient strategy for losing weight and adipose tissue, physical activity, either alone or combined with nutritional management, can also play an important role in reducing FM while simultaneously preserving fat-free mass (FFM) [7]. A dose-dependent relationship between the amount of exercise performed and the amount of fat lost has been reported in sedentary, overweight, 45- to 60-year-old men and women [8].

The current international guidelines suggest that endurance training [moderate-intensity continuous training (MICT)] is the best strategy for weight loss and FM reduction [9]. In its latest recommendations, the American College of Sports Medicine (ACSM) prescribed 150–250 min.week⁻¹ of moderate-intensity physical activity for effective prevention of weight gain, and > 250 min.week⁻¹ for clinically significant weight loss, in men and women [9]. Yet, despite the cardiovascular and metabolic benefits of such programs, effective body weight loss may be limited or even non-existent if exercise is not associated with calorie restriction [10]. A growing body of evidence suggests that, compared with MICT, high-intensity interval training (HIIT) - repeated bouts of high-intensity effort followed by less-intense recovery times - may result in similar or better improvement of fitness and cardiovascular health in men and women [11,12]. Moreover, HIIT might also more effectively reduce FM, particularly abdominal subcutaneous FM and VAT [13]. Such HIIT effects were observed in normal weight and overweight/obese women [14–17]. Conversely, nothing is known of the potential effects of HIIT in postmenopausal women with T2D, despite their greater risk of developing CVD.

Thus, the purpose of the present study was to examine and compare the effects of 16-week HIIT and MICT programs on whole-body and abdominal FM in postmenopausal women with T2D. Our hypothesis was that HIIT could more effectively reduce total and abdominal (visceral) FM compared with traditional endurance training.

2. Methods

2.1. Subjects

Twenty 61- to 80-year-old women were recruited from the French Diabetes Association in Auvergne (AFD 63). The mean time elapsed since T2D diagnosis was 14.5 ± 2.1 years. The main inclusion criteria were:

- postmenopausal women;
- T2D;
- body mass index (BMI) > 25 kg/m² and ≤ 40 kg/m²;
- stable eating habits and physical activity for at least 3 months.

Exclusion criteria were:

- medical contraindications for intense physical activity;
- painful joints;
- taking HRT.

A total of 17 postmenopausal women with T2D were finally selected for the two 16-week interventional programs (Fig. 1). None of the participants had a history of chronic arterial or respiratory disease, CVD or any endocrine disorder except T2D. All of the women were being medically treated: nine with biguanides; four with biguanides and glinides or dipeptidyl peptidase (DPP)-4 inhibitors; two with biguanides and DPP-4 inhibitors and sulphonamides; and two with biguanides and insulin injections (insulin detemir or aspart). Although all participants reported low levels of physical activity [as per their International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) results], all had been going to a fitness centre for at least 1 year (for 1 h twice a week) before beginning the study intervention. This activity had been suggested by AFD 63 and included 10 min of cycling, and around 20 min of resistance training and 10 min of stretching.

As age, physical fitness and FM distribution can alter lipid oxidation [18,19], participants were first subdivided in two groups matched for age, their theoretical maximum aerobic power ($MAP_{th} = 3 \text{ W/kg FFM}$) [20] and abdominal-to-lower-body FM ratio. The two groups were then randomly allocated to either HIIT ($n = 8$) or MICT ($n = 9$).

The study had approval from the relevant ethics committee (Comité de Protection des Personnes Sud Est VI, CPPAU814) and was registered on ClinicalTrials.gov via the Protocol Registration System (ClinicalTrials.gov: NCT02352246). After receiving detailed information on study objectives and protocol, each participant gave their written informed consent.

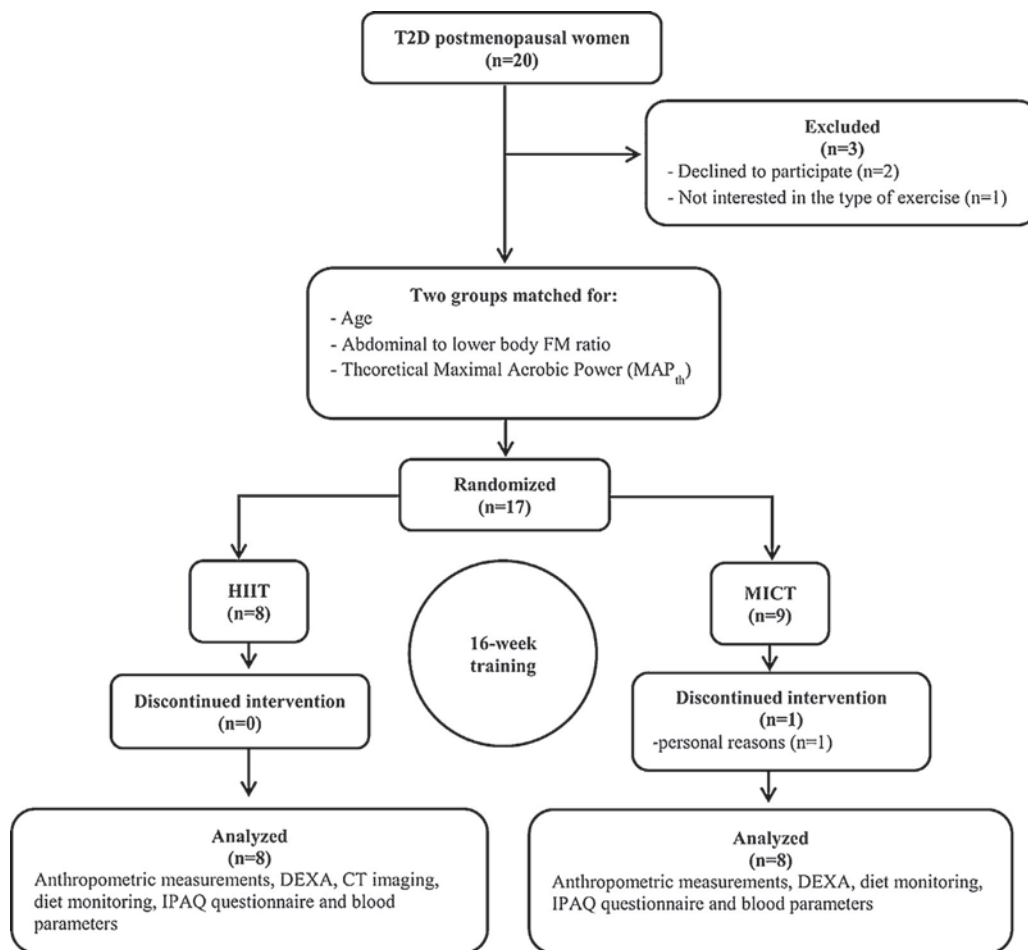


Fig. 1. Flow diagram of study participant recruitment. T2D: type 2 diabetes; FM: fat mass; HIIT: high-intensity interval training; MICT: moderate-intensity continuous training; DEXA: dual-energy X-ray absorptiometry; CT: computed tomography; IPAQ: International Physical Activity Questionnaire.

2.2. Study design

2.2.1. Anthropometric measurements

Body weight was measured to the nearest 0.1 kg on a seca 709 scale (Hamburg, Germany) under fasting conditions, with subjects wearing only underwear. Height was measured to the nearest 0.5 cm with a wall-mounted stadiometer. BMI was calculated as body weight (kg) divided by the square of height (m²). Waist circumference (cm) was measured midway between the last rib and upper iliac crest, and hip circumference at the level of the femoral trochanters. Both measures were taken in standing position with a measuring tape. Sagittal abdominal diameter (supine abdominal height) was measured with a Holtain–Kahn abdominal caliper (Holtain Limited, Crymych, Pembs, UK) to the nearest mm in the sagittal plane at the level of the iliac crests (L4–L5) during normal expiration, with the subject lying supine on a firm bench with knees bent. Abdominal skinfold thickness was measured at four different sites (at 12 cm and 7 cm to the right and left of the navel) with a Harpenden Skinfold Caliper (Mediflex Corp., Long Island, NY, USA), and the mean subcutaneous abdominal skinfold thickness was then calculated [21]. The same experienced investigator took all anthropometric measurements at baseline and after 16 weeks of training.

2.2.2. Body composition

Total body and regional FM as well as FFM (expressed as kg and % of body mass) were measured with a dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) scanner (QDR-4500A, Hologic, Inc., Marlborough, MA, USA). Two regions of interest were manually isolated and analyzed by an experienced technician:

- the area from L1–L2 to the pubic rami to determine total abdominal FM (kg);
- the area from the iliac crest to the feet to calculate lower-body FM (kg).

All analyses were performed by the same operator. Total visceral FM (kg) was estimated from the total abdominal FM on DEXA, mean subcutaneous abdominal skinfold thickness and abdominal height, as previously described [21]. For the HIIT group only, visceral FM (g) was also assessed at the L4–L5 level by computed tomography (CT; Somatom AS64 scanner, Siemens AG, Erlangen, Germany), using the semi-automatic segmentation MIPAV (Medical Image Processing, Analysis, and Visualization) plug-in software. CT images were analyzed by an experienced technician.

2.2.3. Training protocol

Participants performed two exercise sessions per week for 16 weeks. To allow for a sufficient recovery period, the two sessions were done on Tuesdays and Thursdays (between 2.30 pm and 4.00 pm). Exercise training was performed on C-MAX Club fitness bikes, and supervised by an experienced physical activity instructor. In both intervention groups, training sessions included 5-min warm-up and 5-min cool-down sessions on the bike at a workload chosen by the participant herself. Blood pressure and blood glucose (Accu-Chek Performa Blood Glucose Meter, Roche Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Switzerland) were monitored before and after each exercise session. Energy expenditures (EEs) per exercise session were measured 1 week before the program started, using a SenseWear[®] MF Armband (BodyMedia, Pittsburgh, PA, USA), which calculates EEs from accelerometry, body temperature, heat flux, impedance and individual characteristics, in four subjects who performed one MICT session and one HIIT session. EEs per session did not differ between the two modalities (262 ± 58 kcal with HIIT and 240 ± 58 kcal with MICT).

2.2.4. High-intensity interval training (HIIT)

The HIIT training program was based on the protocol by Trapp et al. [17], which appears to be an attractive and feasible cycling program for sedentary middle-aged women. In fact, this HIIT modality is more like the square-wave endurance exercise test (SWEET) [22] than sprint interval training (SIT), which involves ‘supramaximal’ levels of intensity [12]. The HIIT protocol consisted of repeated cycles of sprinting for 8 s [at around 80% maximum heart rate (HR_{max})] followed by pedalling slowly (20–30 rpm) for 12 s (maximum of 60 cycles per 20-min session). The selected resistance was the same for each participant and was very low (almost zero) to facilitate acceleration and limit bicycle-wheel inertia.

All of the participating women were able to complete the full 20-min exercise program after three or four sessions. Mean HR was monitored at the beginning, middle and end of the study (weeks 2, 8 and 15, respectively). HIIT-induced a mean HR that was 77–85% of the estimated maximum HR ($EstHR_{max} = 208 - 0.7 \times age$) [23] at each evaluation. After the 20-min exercise session, subjects reduced their workload and pedalled for another 5 min before getting off the bicycle.

2.2.5. Moderate-intensity continuous training (MICT)

Women in the MICT group exercised at 55–60% of the target HR (THR) for their individual HR reserve (HRR) for 40 min. THR ranges were determined from $EstHR_{max}$ (see above) and HR at rest (HR_{rest}), using the following formulas: $THR_{55\%HRR} = (EstHR_{max} - HR_{rest}) \times 0.55 + HR_{rest}$; and $THR_{60\%HRR} = (EstHR_{max} - HR_{rest}) \times 0.60 + HR_{rest}$. Exercise duration was gradually increased over the first 2 weeks to reach 40 min/session of cycling. THR was calculated again after 2 months because of the subjects’ potential improvements in fitness. At the end of each exercise session, there was a 5-min cool-down.

2.2.6. Diet monitoring

Women were asked to maintain their normal eating habits during the 16-week study period. At baseline and at week 16 of training, each participant provided a 7-day food-intake diary, which was evaluated by a dietitian using nutrition analysis software (Nutrilog[®], Marans, France).

2.2.7. Physical activity levels

Participants were asked to maintain their normal levels of physical activity during the study period. Their usual weekly level of physical activity was determined at baseline and after 16 weeks by the French version of the IPAQ [24].

2.2.8. Blood parameters

Blood samples were taken the week before beginning the protocol (T0: baseline values) and then 3–5 days after the last exercise session (T4), depending on the subjects’ availability and to avoid any potential effect of the last exercise session on results. After an overnight fast, a cannula was inserted into the antecubital vein, and whole blood was collected in EDTA and fluoride Vacutainers. Plasma concentrations of total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG) were immediately measured, using a Synchron Clinical System UniCel DxC analyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), with a cholesterol oxidase method for TC (CHOL reagent), a direct homogeneous method for HDL-C (HDL-D reagent) and a lipase/glycerol kinase method for TG (GPO reagent). The low-density lipoprotein (LDL) fraction was indirectly quantified using the equation described by Friedewald et al. [25]. Plasma glucose concentration was immediately determined by a hexokinase method (UniCel DxC analyzer, Synchron). Finally, HbA_{1c} values were evaluated by a high-performance liquid chromatography (HPLC) Variant II analyzer equipped with the new 270-2101 NU Kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

2.3. Statistical analysis

All statistical analyses were carried out with STATISTICA version 8.00 software (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Results are expressed as means \pm standard error of the mean (SEM). Before the study began, the sample size required for a statistical power of 80% was calculated based on previous results for FM loss after HIIT training in young women [17]. Based on a two-sided type I error of 5%, a minimum difference of 1.5 ± 0.88 kg, as described by Tremblay et al. [35], for FM loss could be detected with seven women per group. However, our sample size was increased to eight and nine women per group, respectively, at the beginning of the intervention to take into account participants lost to follow-up.

The data were tested for normal distribution using the Kolmogorov–Smirnov test, and the homogeneity of variance was tested with the F-test. Data were log-transformed, when appropriate, prior to statistical analyses. Two-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures was used to determine group and time effects, and group \times time interactions. When a significant effect was found, post-hoc multiple

Table 1

Anthropometric and body composition values based on dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) at baseline and after 16 weeks of moderate-intensity continuous training (MICT; *n* = 8) and high-intensity interval training (HIIT; *n* = 8).

	MICT		HIIT		Anova (<i>P</i>)			MICT	HIIT	<i>P</i>
	Baseline	16 weeks	Baseline	16 weeks	G	T	G × T	Δ Change (%)	Δ Change (%)	
Body weight (kg)	73.9 ± 3.4	74.5 ± 3.5	79.5 ± 5.2	79.4 ± 5.2	0.41	0.63	0.39	0.8 ± 0.6	−0.2 ± 0.9	0.43
BMI (kg/m ²)	29.7 ± 1.2	29.9 ± 1.3	32.6 ± 1.7	32.4 ± 1.6	0.21	0.93	0.26	0.7 ± 0.6	−0.6 ± 0.9	0.27
Waist circumference (cm)	108.5 ± 2.1	107.9 ± 2.3	109.8 ± 4.3	109.6 ± 4.6	0.77	0.67	0.82	−0.6 ± 1.2	−0.2 ± 1.1	0.96
Hip circumference (cm)	107.0 ± 2.9	108.8 ± 2.3	111.0 ± 4.3	107.5 ± 3.7*	0.77	0.38	0.02	1.8 ± 1.4	−3.0 ± 1.1***	0.03
Total FM (kg)	28.2 ± 2.1	27.6 ± 2.1	29.1 ± 2.9	28.3 ± 2.9	0.83	0.02	0.74	−2.4 ± 1.5	−2.9 ± 1.3	0.63
Total FM (%)	37.9 ± 1.3	36.7 ± 1.3	36.2 ± 1.7	35.2 ± 1.5	0.44	0.01	0.70	−3.2 ± 1.2	−2.5 ± 1.3	0.79
Total FFM (kg)	45.6 ± 1.5	46.9 ± 1.7	50.4 ± 2.6	50.9 ± 2.6	0.17	0.03	0.35	2.8 ± 1.0	1.1 ± 1.2	0.32
Arm FM (kg)	3.4 ± 0.3	3.3 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.2	0.63	0.02	0.60	−2.9 ± 2.6	−5.0 ± 2.1	0.64
Arm LBM (kg)	3.6 ± 0.2	3.6 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.2	0.09	0.25	0.19	0.3 ± 1.0	−2.2 ± 1.7	0.19
Leg FM (kg)	8.5 ± 0.8	8.6 ± 0.9	9.6 ± 1.4	8.9 ± 1.1*	0.68	0.11	0.05	0.7 ± 1.5	−5.5 ± 2.7***	0.05
Leg LBM (kg)	12.2 ± 0.4	12.8 ± 0.4**	14.4 ± 1.0	14.1 ± 0.8	0.09	0.25	0.003	5.3 ± 1.2	−1.8 ± 1.3***	0.001
Lower-body FM (kg)	13.9 ± 0.9	13.8 ± 0.9	14.2 ± 1.8	13.6 ± 1.6	0.98	0.10	0.23	−0.9 ± 1.4	−3.3 ± 1.9	0.37
Total abdominal FM (kg)	8.7 ± 1.0	8.6 ± 0.9	8.7 ± 1.1	7.8 ± 0.9*	0.79	0.02	0.03	−0.3 ± 2.1	−8.3 ± 2.2***	0.03
Visceral FM (kg)	4.8 ± 0.9	5.0 ± 0.8	4.1 ± 0.6	3.1 ± 0.6**	0.24	0.07	0.01	10.5 ± 9.7	−24.2 ± 7.7***	0.02

In bold: significant differences (*P* ≤ 0.05). Data are means ± SEM; Δ Change (%) = [(16 weeks – baseline/baseline) × 100]; G: group effect; T: time effect; G × T: group × time interaction; BMI: body mass index; FM: fat mass; FFM: fat-free mass; LBM: lean body mass (FFM excluding bone mineral content).

* *P* ≤ 0.05 (vs. same-group baseline).

** *P* ≤ 0.01 (vs. same-group baseline).

*** *P* ≤ 0.05 (between group differences in Δ change values).

comparisons were performed using the Newman–Keuls test. Values at baseline and changes from baseline to the end of the study [delta change: (16 weeks–baseline/baseline) × 100] were also compared between groups, using the non-parametric Mann–Whitney U test. Wilcoxon’s signed-rank test was used to analyze CT data from the HIIT group, and Pearson’s correlations were used to test relationships between variables. Differences with a *P*-value ≤ 0.05 were considered statistically significant.

3. Results

3.1. Subjects

Of the 20 postmenopausal women contacted for this study, 17 were ultimately enrolled (see flow chart on Fig. 1). Medical treatments did not differ between groups. One subject withdrew from the MICT group for personal reasons after 1 month. Nevertheless, at baseline, both groups remained comparable in terms of age (MICT: 70.1 ± 2.4 years; HIIT: 68.2 ± 1.9 years), abdominal-to-lower-body FM ratio (MICT: 0.22 ± 0.03; HIIT: 0.25 ± 0.02; *P* = 0.67) and MAP_{th} (MICT: 138 ± 4 W; HIIT: 151 ± 8 W; *P* = 0.20).

3.2. Anthropometric measurements and total body mass and composition

Compared with baseline, body weight and waist circumference did not change in either group after the 16-week intervention (Table 1). However, a group × time interaction was noted for hip circumference values, with a significant decrease only in the HIIT group (*P* ≤ 0.05). A time effect was observed for total FM and FFM changes (*P* ≤ 0.05; Table 1, Fig. 2). Overall, arm FM was decreased (time effect without group × time

interaction; *P* ≤ 0.05), whereas leg FM was reduced only in the HIIT group (*P* ≤ 0.05). After the training program, leg lean body mass (LBM, defined as FFM minus bone mineral content) was increased in the MICT group (*P* ≤ 0.05), whereas arm LBM did not change significantly over time.

3.3. Total abdominal and visceral FM assessed by DEXA

Total abdominal and visceral FM did not differ at baseline between groups. Compared with baseline, the total (subcutaneous plus visceral) abdominal FM was significantly reduced (group × time interaction; *P* ≤ 0.05) only with HIIT. Visceral FM (from L1–L2 to pubic rami) was also reduced only in the HIIT group (*P* ≤ 0.01; Table 1, Fig. 2).

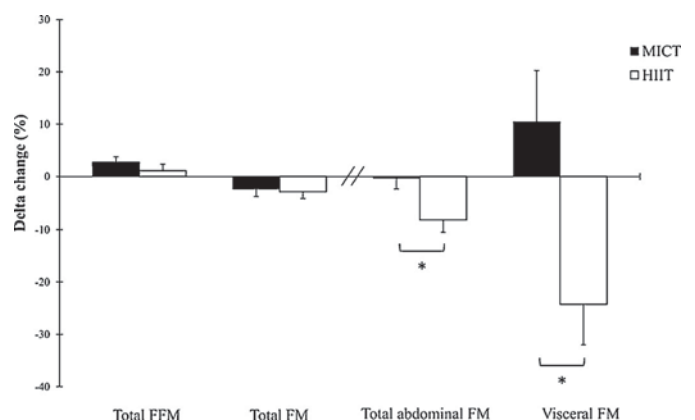


Fig. 2. Body composition changes [based on dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) imaging] between baseline and end of the 16-week exercise program with MICT (*n* = 8) and HIIT (*n* = 8). Data are means ± SEM. MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training; FFM: fat-free mass; FM: fat mass; delta change (%) = [(16 weeks – baseline/baseline) × 100]. * *P* ≤ 0.05 (MICT vs. HIIT groups).

Table 2
L4–L5 computed tomography data at baseline and after 16 weeks of high-intensity interval training (HIIT; $n=8$).

	Baseline	16 weeks	<i>P</i>	Δ Change (%)
L4–L5 abdominal FM (g)	81.4 ± 5.9	77.1 ± 5.1*	0.01	−4.8 ± 1.4
Subcutaneous adipose tissue	38.6 ± 3.1	36.6 ± 2.7	0.34	−3.5 ± 3.7
Visceral adipose tissue	42.8 ± 3.7	40.6 ± 3.9*	0.04	−5.7 ± 2.2

In bold: significant differences ($P \leq 0.05$). Data are means ± SEM; Δ Change (%) = [(16 weeks – baseline/baseline) × 100]; FM: fat mass.

* $P \leq 0.05$ (vs. baseline).

Table 3
Lipid, fasting glucose and HbA_{1c} changes from baseline to week 16 with moderate-intensity continuous training (MICT; $n=8$) and high-intensity interval training (HIIT; $n=8$).

	MICT		HIIT		Anova (<i>P</i>)			MICT	HIIT	<i>P</i>
	Baseline	16 weeks	Baseline	16 weeks	G	T	G × T	Δ Change (%)	Δ Change (%)	
HbA _{1c} (%)	7.6 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.3 ± 0.3	0.75	0.01	0.50	−3.5 ± 1.1	−2.3 ± 1.3	0.80
Fasting glucose (mmol.L ^{−1})	8.4 ± 0.7	8.8 ± 1.1	9.7 ± 0.7	10 ± 0.8	0.25	0.74	0.90	6.8 ± 14.4	3.1 ± 6.5	1.00
TG (mmol.L ^{−1})	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.9 ± 0.3	1.9 ± 0.5	0.03	0.59	0.98	−1.7 ± 8.9	−6.1 ± 7.9	0.86
Total cholesterol (mmol.L ^{−1})	4.5 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.3	4.7 ± 0.5	0.37	0.11	0.87	−5.0 ± 3.1	−7.2 ± 6.9	0.95
HDL (mmol.L ^{−1})	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.16	0.26	0.99	1.5 ± 2.7	2.5 ± 1.6	0.77
LDL (mmol.L ^{−1})	2.4 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.6 ± 0.3	2.7 ± 0.3	0.28	0.09	0.37	−8.3 ± 5.6	−4.1 ± 7.3	0.45
Total cholesterol/HDL	2.9 ± 0.3	2.7 ± 0.2	3.9 ± 0.3	3.5 ± 0.4	0.11	0.03	0.74	−6.3 ± 3.0	−9.6 ± 6.2	0.69

In bold: significant T (time) or G (group) and significant differences ($P \leq 0.05$). Data are means ± SEM; Δ Change (%) = [(16 weeks – baseline/baseline) × 100]; G: group effect; T: time effect; G × T: group × time interaction; TG: triglycerides; HDL/LDL: high-density/low-density lipoprotein.

3.4. Abdominal subcutaneous and visceral FM at L4–L5 on CT

As DEXA revealed that visceral FM decreased only in the HIIT group, CT was performed only in this group after the intervention. The scans revealed that, at the end of the 16-week period, L4–L5 abdominal FM and visceral FM were significantly reduced by HIIT compared with baseline (−4.8% and −5.7%, respectively; Table 2). However, the amount of L4–L5 subcutaneous abdominal FM had not changed at the end of the training period.

3.5. Blood parameters

Plasma triglyceride levels were higher with HIIT (group effect, $P \leq 0.05$). Overall, HbA_{1c} and TC-to-HDL ratio both decreased after the intervention (time effect, $P \leq 0.05$). No change was observed for the other parameters between pre- and postexercise (Table 3). TC reduction was positively correlated with total visceral FM loss ($r=0.39$; $P \leq 0.05$) and HbA_{1c} change was positively associated with the decrease in abdominal FM ($r=0.29$; $P \leq 0.05$).

3.6. Physical activity and diet

After 16 weeks, levels of physical activity (IPAQ score) were unchanged compared with baseline. Similarly, total energy (kcal) intake and macronutrient consumption (distribution and total amount) also did not change significantly (data not shown).

4. Discussion

The present study was designed to compare whole-body and abdominal FM changes induced by a 16-week HIIT or MICT intervention in postmenopausal women with T2D. The two training modalities resulted in similar whole-body FM loss; however, HIIT was significantly more effective than traditional endurance training in reducing total abdominal and visceral FM in this population.

The current guidelines of both the American Diabetes Association (ADA) and European Association for the Study of Diabetes (EASD) acknowledge the therapeutic effects of exercise interventions in patients with T2D. In terms of physiological adaptations, there are differences between the long-term adaptive responses to low-/moderate-intensity and intermittent high-intensity training programs. HIIT and MICT are different exercise modalities with different effects [22,26,27], but they both improve glycaemic control, insulin sensitivity, body composition, blood pressure, muscle strength and aerobic capacity [28,29]. Thus, both modalities are of value in the management of T2D and/or obesity.

Recent evidence suggests that HIIT can be a time-efficient strategy to decrease whole-body FM in sedentary overweight/obese individuals [13]. This goes against the belief that high-intensity training programs are not appropriate for optimal fat oxidation and weight loss in such populations. To our knowledge, only Mitranun et al. [30] have previously investigated HIIT-induced FM loss in postmenopausal women. They studied the effects of 12-week MICT (20 min at 60% VO_{2peak}) and HIIT (4 × 1 min at 80% VO_{2peak} interspersed with 4 min at 50% VO_{2peak}) programs (three times a week) on glycaemic

control, microvascular reactivity and body composition in 43 volunteers aged 50–70 years with T2D (14 men and 29 postmenopausal women; BMI > 29 kg.m⁻²). They reported that, at the end of the training period, body mass was reduced only in the HIIT group, although the same fat loss percentage was observed in both groups (around 2%). Unfortunately, the authors did not focus on HIIT-induced gender-specific responses, and their use of bioelectrical impedance rather than DEXA or CT imaging to measure body composition did not allow assessment of the extent of abdominal FM reduction. Thus, our present study is the first to determine the impact of HIIT on whole-body and abdominal FM in postmenopausal women using precision technologies.

Our results indicate that there was no significant loss of body mass after the 16-week MICT and HIIT programs. This accords with previous studies showing that physical activity alone (without concomitant calorie restriction) does not lead to significant weight loss [10]. Nevertheless, our study found that training reduced total FM and increased FFM, but with no group effect or group × time interaction. This means that the two interventions both provided stimuli with similar effects on whole-body composition in postmenopausal women with T2D.

The total amount of FM lost in our two groups (about 2 kg) was comparable to previous data in the literature. Zhang et al. [15] reported an FM loss of 1.9 kg (range: –2.4, –1.5) after HIIT and of 1.7 kg (range: –2.2, –1.2) after MICT in young overweight Chinese women (12-week training program). As in our study, the authors emphasized that the recorded dietary energy intakes and habitual EEs did not change during the intervention. HIIT may sometimes be more effective for reducing total body fat than other types of exercise [13]; however, our study is not the first to find no differences between MICT and HIIT [15]. This discrepancy in the literature might be explained by differences in the intervention modalities, the number of sessions per week and the studied populations. Another reason could be the hormone status of the population. In fact, it is well known that oestrogen deficiency decreases fat oxidation at rest, but also during exercise [31]. Thus, the reduced fat oxidation rate observed in postmenopausal women in our study could have blunted the potential differences between MICT and HIIT in reducing FM.

Although the two training programs did not differ in terms of total FM loss, only HIIT led to reductions in leg and abdominal FM after 16 weeks. Despite exercising almost half the time as in the MICT group, women in the HIIT group lost 5% of leg FM and 8% of total abdominal FM, whereas no change was observed in the MICT group. Similarly, DEXA analysis of total VAT indicated that FM was reduced only in the HIIT group. Furthermore, the significant decrease in abdominal and visceral FM with HIIT was confirmed by L4–L5 CT imaging (–4.8% and –5.7%, respectively). Our results are consistent with the study by Gillen et al. [14], in which 16 young overweight women (27 ± 8 years, BMI: 29 ± 6 kg.m⁻²) completed, under fast and fed conditions, 18 HIIT sessions (10 × 60-s cycling exercises at around 90% HR_{max}, 60-s recovery) for 6 weeks. Under both conditions, whole-body mass was unchanged at the end of training, whereas DEXA analysis revealed a decrease in whole-body and abdominal fat percentages compared with baseline. Similarly,

Heydari et al. [32] showed significant decreases in abdominal (7%) and visceral FM (10%) at the level of L4–L5 in young overweight men (24.7 ± 4.8 years, BMI: 28.4 ± 0.5 kg.m⁻²) after 12 weeks of HIIT (60 × 8-s cycling exercises, 12-s recovery). More recently, Zhang et al. [15] demonstrated, with CT scans, that HIIT (4 × 4-min running bouts at 85–95% HR_{peak}) was more effective than MICT (33-min running bouts at 60–70% HR_{peak}) at inducing significant reductions in visceral and subcutaneous abdominal FM in young overweight Chinese women (20.9 ± 0.3 years, BMI ≥ 25 kg.m⁻²).

Overall, our results in T2D (overweight) postmenopausal women are in agreement with previous studies reporting that HIIT is more effective than MICT for decreasing abdominal FM in young men and in young normal weight/obese women. As abdominal and visceral FM is more strongly associated with the risk of CVD compared with overall obesity [2,33], such HIIT-induced reduction of central adiposity is of interest for the management of overweight and T2D in postmenopausal women. This result is further strengthened by the correlation between TC reduction and visceral FM loss, and between HbA_{1c} reduction and abdominal FM loss. Importantly, changes in body composition and blood parameters cannot be attributed to either diet or daily activity because the recorded dietary energy intakes and physical activity levels did not vary in either group during the interventions.

The MICT program had no significant effect on abdominal fat loss compared with HIIT; however, it significantly reduced HbA_{1c} ($P=0.01$). This is consistent with other studies suggesting metabolic effects with low-/moderate-intensity endurance training [27,34]. Interestingly, MICT also induced a significant increase in leg LBM (FFM excluding bone mineral content; $P=0.003$), which was not observed with HIIT. The greater time spent on the bike with MICT (40 min twice a week for 12 weeks) might have favoured FFM increase compared with HIIT (8 s × 60 twice a week for 12 weeks), despite its greater exercise intensity.

The mechanisms underlying HIIT-induced total and abdominal FM loss are unclear, but may include greater exercise and postexercise total and abdominal fat oxidation. As a demonstration, people who indulge in vigorous physical activity on a regular basis are leaner than those who never take part in such activities [35]. It is also well known that HIIT is more effective than MICT for stimulating secretion of lipolytic hormones such as catecholamines [36], and noradrenaline (NA) increases fat oxidation, while adrenaline (A) enhances both carbohydrate oxidation and lipolysis. The greater fat oxidation following a HIIT session could be indirectly related to higher sympathetic nervous system (SNS) activation (by NA release), thereby ultimately producing increased levels of circulating free fatty acids (FFA) postexercise. Recently, Wingfield et al. [37] confirmed that HIIT favours fat mobilization during exercise and enhances fat oxidation during the recovery period. These authors found that, in recreationally active women, their respiratory exchange ratios were lower at 30 min and 60 min after HIIT than after MICT or high-intensity resistance training (HIRT). This could be facilitated by higher excess postexercise oxygen consumption (EPOC) when exercise is performed at > 75% VO_{2max} [38].

It is well known that lipid oxidation decreases above 40–50% $\text{VO}_{2\text{max}}$, a level at which lipolysis is still active.

Thus, HIIT is a well-adapted exercise modality that increases levels of circulating FFA during exercise and then promotes greater fat oxidation during recovery. As the content of β -adrenergic receptors is higher in visceral than in subcutaneous adipose tissue [39], the greater SNS activation during HIIT might explain the greater reliance on visceral FM during this type of exercise. In addition, it has been shown that VAT exhibits smaller adipocytes [40], greater lipolytic activity [41] and lower responses to the antilipolytic effects of insulin [42] than do subcutaneous depots. Altogether, this may contribute to an explanation of why HIIT induces greater abdominal and visceral FM loss than MICT.

One of the limitations of our present study is the small number of subjects. However, seven of the eight postmenopausal women in the HIIT group showed decreases in abdominal and visceral FM. This strengthens the significant role of HIIT on abdominal FM loss in only 16 weeks. On the other hand, it cannot be ruled out that a longer training period might have induced similar effects on abdominal and visceral FM in the MICT group as well. For example, the RESOLVE study showed that high-intensity, high-volume activity induces more rapid loss of visceral FM than endurance training, yet similar results were also observed with endurance training when the intervention was prolonged [43].

In conclusion, our study has demonstrated that, even in the absence of concomitant energy restriction, HIIT twice a week for 16 weeks reduces total abdominal and visceral FM in postmenopausal women with T2D more effectively than a traditional endurance cycling program. HIIT is a time-efficient, feasible, attractive and effective intervention for decreasing visceral obesity in postmenopausal women with T2D, and may be proposed as an alternative strategy to limit CVD risk in this population.

Authors contribution

Significant manuscript writer: Florie Maillard, Nathalie Boisseau.

Significant manuscript reviewer/reviser: Martine Duclos, Yves Boirie, Sylvie Rousset.

Concept and design: Nathalie Boisseau, Martine Duclos.

Data acquisition: Florie Maillard, Sylvie Rousset, Amidou Traore, Philippe de Pradel Del Amaze, Nathalie Boisseau.

Data analysis and interpretation: Florie Maillard, Amidou Traore, Philippe de Pradel Del Amaze, Nathalie Boisseau.

Statistical expertise: Bruno Perreira, Florie Maillard, Nathalie Boisseau.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

Acknowledgments

The authors wish to thank, in particular, the president of the AFD 63 association (Mrs Léonce), and all the study

participants for their kind collaboration. The authors also thank Stéphane Pénando, Stéphanie Derkaoui, Jessica Lavigne and Justine Tépinière for their kind assistance during the experimental protocol and their help in data collection.

This study was supported by the Région Auvergne.

References

- [1] Goedecke J, Micklesfield L. The effect of exercise on obesity, body fat distribution and risk for type 2 diabetes. *Med Sport Sci* 2014;60:82–93.
- [2] Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000;21:697–738.
- [3] Williams CM. Lipid metabolism in women. *Proc Nutrition Soc* 2004;63:153–60.
- [4] Lovejoy JC, Champagne CM, de Jonge L, Xie H, Smith SR. Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition. *Int J Obes* 2008;32:949–58.
- [5] Salpeter SR, Walsh JM, Ormiston TM, Greyber E, Buckley NS, Salpeter EE. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Diabetes Obes Metab* 2006;8:538–54.
- [6] Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Weickert MO. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin Res Cardiol* 2006;95:136–47.
- [7] Drenowatz C, Hand GA, Sagner M, Shook RP, Burgess S, Blair SN. The prospective association between different types of exercise and body composition. *Med Sci Sports Exerc* 2015;47(12):2535–41.
- [8] Slentz CA, Duscha BD, Johnson JL, Ketchum K, Aiken LB, Samsa GP, et al. Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STRRIDE – a randomized controlled study. *Arch Intern Med* 2004;164:31–9.
- [9] Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:459–71.
- [10] Wu T, Gao X, Chen M, Van Dam R. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obes Rev* 2009;10:313–23.
- [11] Kessler HS, Sisson SB, Short KR. The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sports Med* 2012;42:489–509.
- [12] Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med* 2014;48:1227–34.
- [13] Boutcher SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. *J Obes* 2011;2011:868305.
- [14] Gillen JB, Percival ME, Ludzki A, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Interval training in the fed or fasted state improves body composition and muscle oxidative capacity in overweight women. *Obes* 2013;21:2249–55.
- [15] Zhang H, Tong KT, Qiu W, Wang J, Nie J, He Y. Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: a randomized controlled trial. *Kinesiol* 2015;47:57–66.
- [16] Sijie T, Hainai Y, Fengying Y, Jianxiong W. High-intensity interval exercise training in overweight young women. *J Sports Med Phys Fitness* 2012;52:255–62.
- [17] Trapp E, Chisholm D, Freund J, Boutcher S. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes* 2008;32:684–91.
- [18] Isacco L, Duche P, Thivel D, Meddahi-Pelle A, Lemoine-Morel S, Duclos M, et al. Fat mass localization alters fuel oxidation during exercise in normal weight women. *Med Sci Sports Exerc* 2013;45:1887–96.
- [19] Venables MC, Achten J, Jeukendrup AE. Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *J Appl Physiol* 2005;98:160–7.
- [20] Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ, Froelicher VF. Principles of exercise testing and interpretation. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 1987;7:189.

- [21] Martin ML, Jensen MD. Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *J Clin Invest* 1991;88:609.
- [22] Maurie J, Brun J-F, Jean E, Romain A-J, Mercier J. Comparison of Square-Wave Endurance Exercise Test (SWEET) training and endurance training targeted at the level of maximal lipid oxidation in type 2 diabetics. *Sci Sports* 2011;26:92–6.
- [23] Tanaka H, Monahan KD, Seals DR. Age-predicted maximal heart rate revisited. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:153–6.
- [24] Craig CL, Marshall AL, Sjoström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381–95.
- [25] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499–502.
- [26] Karstoft K, Winding K, Knudsen SH, Nielsen JS, Thomsen C, Pedersen BK, et al. The effects of free-living interval-walking training on glycemic control, body composition, and physical fitness in type 2 diabetic patients: a randomized, controlled trial. *Diab Care* 2013;36:228–36.
- [27] Lanzi S, Codecasa F, Cornacchia M, Maestrini S, Capodaglio P, Brunani A, et al. Short-term HIIT and Fatmax training increase aerobic and metabolic fitness in men with class II and III obesity. *Obes* 2015;23:1987–94.
- [28] Praet SF, van Loon LJ. Exercise therapy in type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2009;46:263–78.
- [29] Bird SR, Hawley JA. Exercise and type 2 diabetes: new prescription for an old problem. *Maturitas* 2012;72:311–6.
- [30] Mitranun W, Deerochanawong C, Tanaka H, Suksom D. Continuous vs interval training on glycemic control and macro- and microvascular reactivity in type 2 diabetic patients. *Scand J Med Sci Sports* 2014;24:e69–76.
- [31] Abildgaard J, Pedersen AT, Green CJ, Harder-Lauridsen NM, Solomon TP, Thomsen C, et al. Menopause is associated with decreased whole-body fat oxidation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;304:E1227–36.
- [32] Heydari M, Freund J, Boutcher SH. Aerobic fitness and abdominal fat mass of overweight males following 12 weeks of high-intensity, intermittent exercise. *Obes Res Clin Pract* 2012;4(Supplement 1):S41.
- [33] De Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur Heart J* 2007;28:850–6.
- [34] Besnier F, Lenclume V, Gerardin P, Fianu A, Martinez J, Naty N, et al. Individualized exercise training at maximal fat oxidation combined with fruit and vegetable-rich diet in overweight or obese women: the LIPOXmax-Reunion randomized controlled trial. *PLoS One* 2015;10:e0139246.
- [35] Tremblay A, Despres JP, Leblanc C, Craig CL, Ferris B, Stephens T, et al. Effect of intensity of physical activity on body fatness and fat distribution. *Am J Clin Nutr* 1990;51:153–7.
- [36] Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Med* 2008;38:401–23.
- [37] Wingfield HL, Smith-Ryan AE, Melvin MN, Roelofs EJ, Trexler ET, Hackney AC, et al. The acute effect of exercise modality and nutrition manipulations on postexercise resting energy expenditure and respiratory exchange ratio in women: a randomized trial. *Sports Med Open* 2015;2.
- [38] Bahr R, Sejersted OM. Effect of intensity of exercise on excess postexercise O₂ consumption. *Metabol* 1991;40:836–41.
- [39] Rebuffe-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Bjorntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabol* 1989;38:453–8.
- [40] Salans LB, Cushman SW, Weismann RE. Studies of human adipose tissue. Adipose cell size and number in nonobese and obese patients. *J Clin Invest* 1973;52:929–41.
- [41] Ostman J, Arner P, Engfeldt P, Kager L. Regional differences in the control of lipolysis in human adipose tissue. *Metabol* 1979;28:1198–205.
- [42] Bolinder J, Kager L, Östman J, Arner P. Differences at the receptor and postreceptor levels between human omental and subcutaneous adipose tissue in the action of insulin on lipolysis. *Diabetes* 1983;32:117–23.
- [43] Duthiel F, Lac G, Lesourd B, Chapier R, Walther G, Vinet A, et al. Different modalities of exercise to reduce visceral fat mass and cardiovascular risk in metabolic syndrome: the RESOLVE randomized trial. *Int J Cardiol* 2013;168:3634–42.

Résultats complémentaires publication n°1

Le but de cette étude était de comparer l'effet de différentes modalités d'exercice, HIIT vs. MICT, sur la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2.

Cette étude a montré que le HIIT pendant 16 semaines pratiqué 2 fois par semaine était plus efficient pour réduire la masse grasse abdominale et surtout viscérale en comparaison au MICT chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2.

Afin de confirmer que la perte de masse grasse n'était pas due à des différences de prise alimentaire ou d'une augmentation des dépenses énergétiques, nous avons évalué ces paramètres.

⇒ **Alimentation : Prise et comportement alimentaire**

Matériel et méthode :

Durant la période de l'étude (16 semaines), aucune consigne particulière n'a été donnée aux sujets concernant leurs apports alimentaires. Au début et à la 16^{ème} semaine d'entraînement, chaque sujet a rempli un questionnaire alimentaire (auto-évaluation) sur 7 jours. L'analyse nutritionnelle a ensuite été réalisée par un diététicien via un logiciel de nutrition (Nutrilog®, France). Le comportement alimentaire post-pédalage a été évalué chaque mois (T1, T2, T3 et T4) à l'aide d'une échelle visuelle analogique de 100 millimètres où le sujet devait y indiquer son niveau de faim, satiété et envie de manger. Les recueils ont été réalisés avant le début et à la fin de la session de pédalage, 30 minutes après la fin de l'effort puis avant le repas du soir (+ 180 minutes). L'aire sous la courbe a été calculée à partir des scores sur l'échelle analogique aux différents temps (Flint et al., 2000).

Résultats :

La prise alimentaire totale (kcal) (Figure 18), la consommation des macronutriments et micronutriments n'était pas différente entre les groupes et entre le début et la fin de l'étude dans chacun des groupes (Tableau 9). L'analyse plus fine de la prise alimentaire dans les 8, 24, 48 et 72 heures suivant l'exercice n'a pas montré de différences entre les groupes. De même, le comportement alimentaire post-exercice (faim, satiété, désir de manger) restait inchangé

et non différent entre les groupes (Figure 19). Il n'existait pas de corrélation entre le delta de perte de MG (%) et le delta de variation de la prise alimentaire (%) ($p=0.54$).

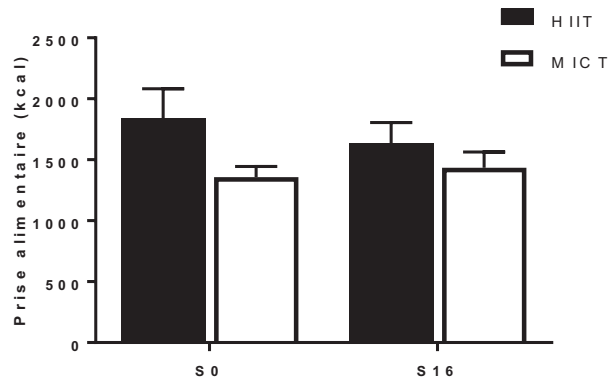


Figure 18 : Evolution de la prise alimentaire entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16), dans le groupe MICT ($n=8$) et HIIT ($n=8$) (moyenne \pm SEM).

Tableau 9 : Evolution des micro et macronutriments entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16), dans le groupe MICT ($n=8$) et HIIT ($n=8$) (moyennes \pm SEM).

	MICT		HIIT		ANOVA (p)		
	S0	S16	S0	S16	G	T	G x T
Protéines (g)	64.9 \pm 3.7	68.1 \pm 5.0	75.9 \pm 7.0	74.9 \pm 3.6	0.2	0.8	0.6
Lipides (g)	55.4 \pm 5.1	59.1 \pm 6.7	64.4 \pm 6.5	70.6 \pm 7.6	0.3	0.1	0.7
Glucides (g)	145.4 \pm 9.9	154.4 \pm 13.9	182.3 \pm 17.4	188.9 \pm 20	0.1	0.2	0.8
Calcium (mg)	806.4 \pm 25.4	822.7 \pm 61.7	862.9 \pm 102.3	691.0 \pm 101.4	0.7	0.2	0.2
Fer (mg)	8.9 \pm 0.6	9.6 \pm 0.9	10.7 \pm 0.9	10.7 \pm 0.7	0.1	0.6	0.6
Vit D (μg)	9.3 \pm 0.6	9.8 \pm 1.0	10.3 \pm 0.6	9.8 \pm 0.5	0.3	0.5	0.9

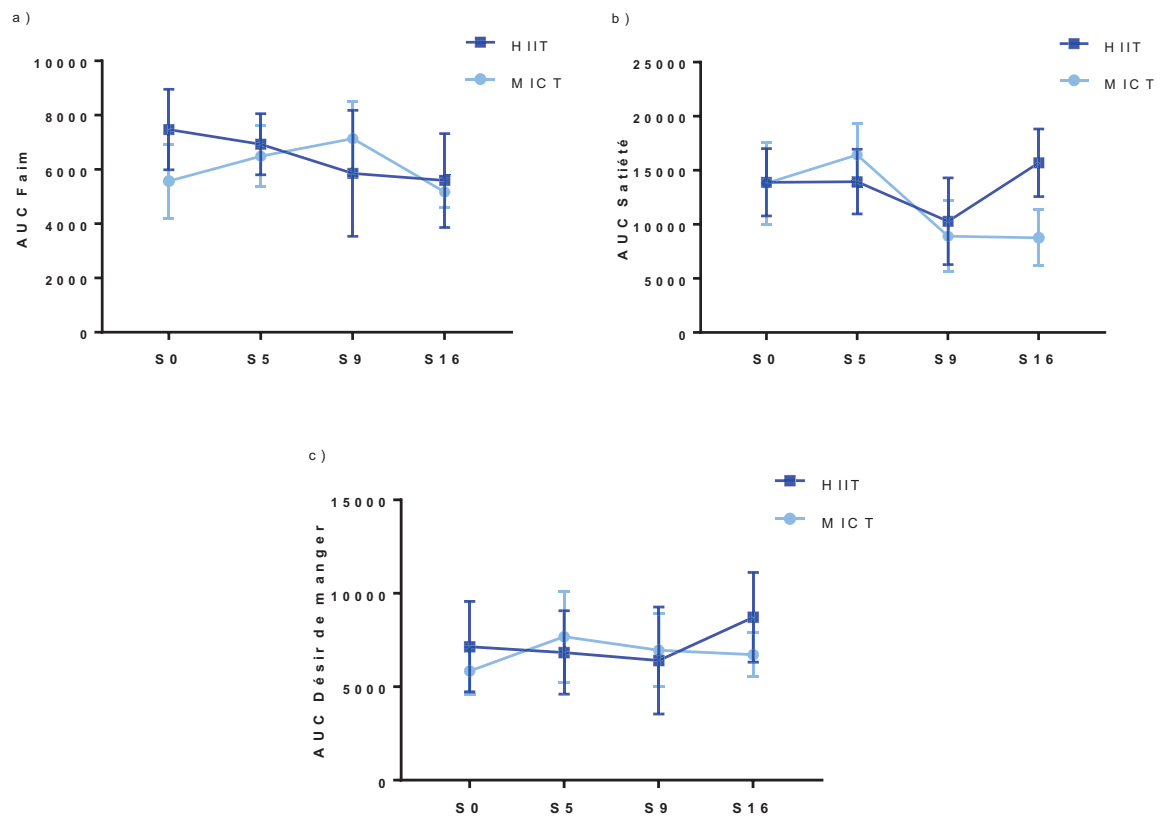


Figure 19 : Evolution du comportement alimentaire entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention, dans le groupe MICT (n=8) et HIIT (n=8) (moyenne \pm SEM). (a) Faim (b) Satiété (c) Désir de manger; AUC : aire sous la courbe (à partir des 4 temps : pré et post effort, + 30 et + 180 min des scores de l'échelle analogique).

⇒ Niveau d'activité physique

Matériel et méthode :

Durant la période de l'étude, les participantes devaient maintenir leur niveau classique d'activité physique. Au début et après 16 semaines d'entraînement, le niveau d'AP a été évalué via le questionnaire IPAQ (version française) (Craig et al., 2003).

Résultats :

Le niveau d'activité physique des patientes reste inchangé quel que soit le groupe (Figure 20).

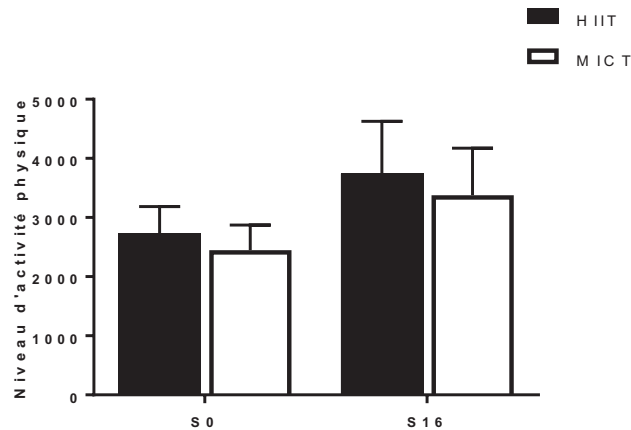


Figure 20 : Evolution du niveau d'activité physique mesuré par l'IPAQ entre le début (S0) et la fin des 16 semaines d'intervention (S16), dans le groupe MICT (n=8) et HIIT (n=8) (moyenne \pm SEM).

Discussion et conclusion des résultats complémentaires :

Si peu de données sont disponibles concernant l'effet du HIIT sur le niveau d'activité physique (temps de sédentarité ou niveau d'activité physique réel), la littérature fournit de nombreuses données au regard de l'effet de l'exercice sur l'apport et le comportement alimentaire. Comme dans notre étude, Alkahtani et al. ont montré chez des hommes (âge : 29.0 ± 4.1 ans ; IMC : 29.1 ± 2.4 kg.m²) que ni l'HIIT (20min : 15s à 85% VO_{2max} suivi de 15s de récupération), ni le MICT (30 min : 20% dessus and 20% en-dessous du FAT_{max}) n'altéraient les sensations alimentaires et le choix des nutriments post-exercice (Alkahtani et al., 2014). Contrairement à nos résultats, l'équipe de Sim et al. a montré qu'un exercice HIIT (30 min 60s à 100% VO_{2pic} entrecoupé de 240s à 50% VO_{2pic}) chez des hommes (âge : 30 ± 8 ans ; IMC : 27.7 ± 1.6 kg.m²) diminuait la prise alimentaire de façon intensité-dépendante, mais que le comportement alimentaire n'était pas différent entre les groupes post-exercice (Sim et al., 2014). Toutefois, une récente méta-analyse confirme que le HIIT n'impacte pas la prise alimentaire (Taylor et al., 2018). Ces résultats divergents peuvent-être expliqués par la durée, l'intensité et la modalité de l'exercice mais également par l'âge, le sexe, la composition corporelle et le niveau d'activité physique (Howe et al., 2014). De plus, l'utilisation de questionnaires présente de nombreux inconvénients (Taylor et al., 2018), ainsi le développement d'outils permettant de limiter les biais est nécessaire.

⇒ Publications émanant de ce travail complémentaire

Aujourd'hui, l'intérêt pour l'adoption de nouvelles technologies de l'information (TIC) et de la communication dans le domaine du suivi médical est en pleine essor (Vlahu-Gjorgievska et al., 2016). L'utilisation des TIC peut faciliter l'éducation des patients et améliorer l'autogestion des maladies chroniques (Morton et al., 2017). Dans ce contexte, des participantes volontaires ont en parallèle participé au protocole en portant un smartphone (Samsung Galaxy x Cover or LG Nexus 4) contenant l'application « eMouveRecherche » développée par l'équipe de l'INRA-Unité de Nutrition Humaine. Les volontaires devaient porter leur smartphone pendant 7 jours (à l'exception du sommeil de nuit). Le port de l'appareil se fait au niveau d'une poche avant du pantalon (droite ou gauche). Une fois l'application activée en mode « on », et le smartphone remis en veille, les volontaires peuvent se soustraire de toute action le concernant. Si pour une raison quelconque les volontaires ne portent pas leur portable sur une période de plus de 10 minutes (exemple: natation), elles devaient signaler la durée et le type d'activité réalisée au diététicien responsable de la supervision du protocole (rapport écrit, appel téléphonique ou directement via l'application). Les données seront récupérées par le serveur INRA via ActivCollector : <https://activcollector.clermont.inra.fr/> et traitées périodiquement. Cet outil est validé comparé à d'autres accéléromètres comme le Armband® ou l'Actiheart® (Guidoux et al., 2014). L'objectif final sera de corrélérer le temps de sédentarité, l'activité physique totale et la répartition des activités légères, moyennes et intenses avec les paramètres de la composition corporelle (Masse grasse totale, abdominale et viscérale). D'autres sujets ont été recrutés à partir du service médecine du sport du CHU Gabriel Montpied à Clermont-Ferrand, afin de compléter l'étude. Une fois ces nouvelles données analysées, une publication dans le journal « The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness » est envisagée.

⇒ Travaux émanant de cette publication 1

- Publication n°22 (*Lettre à l'éditeur*) : Réalisation d'une étude croisée (cross-over)

Lors de la soumission de la publication n°1, l'une des principales remarques faites par un examinateur était l'hétérogénéité possible des deux groupes avec, peut-être, quelques «bons répondeurs» dans le groupe HIIT. Pour répondre à cette question, nous avons demandé aux patients volontaires d'effectuer 6 mois plus tard (wash-out) la deuxième modalité d'exercice (Figure 21). A notre connaissance, aucune étude croisée n'a été réalisée dans ce contexte.

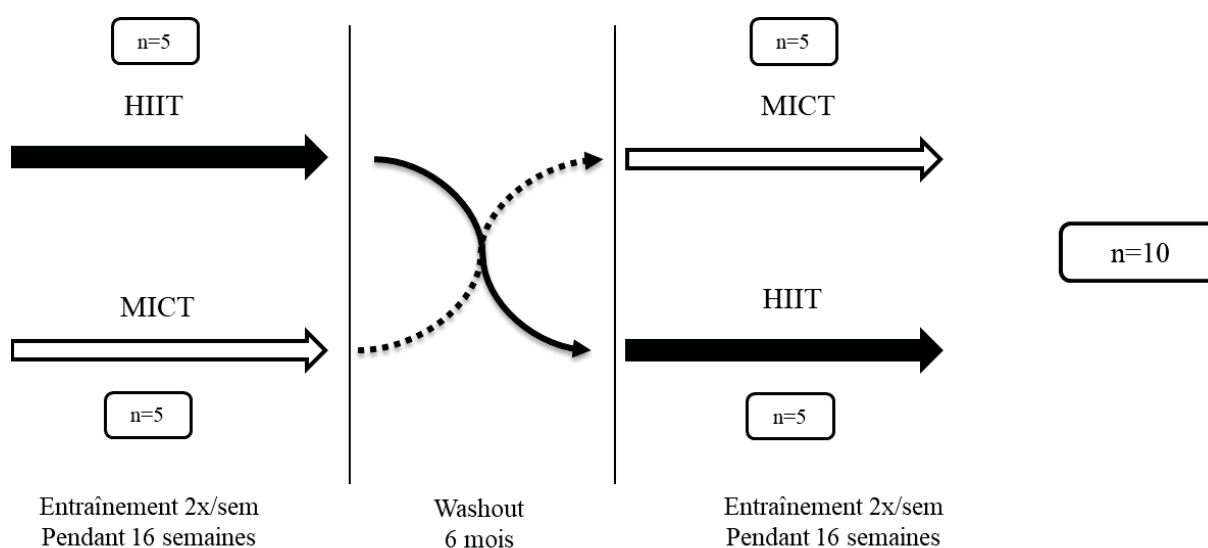


Figure 21 : Schéma de l'étude croisée.

- Publication n°3 : Réalisation d'une méta-analyse

Afin de renforcer et de confirmer l'efficacité d'un entraînement de type HIIT, dans une troisième publication, nous avons réalisé une méta-analyse sur l'effet du HIIT et la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale.

Publication n°2 (Lettre à l'éditeur)

High intensity interval training is more effective than moderate intensity continuous training in reducing abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized crossover study.

Florie Maillard^a, Sylvie Rousset^{b,f}, Pereira Bruno^c, Yves Boirie^{b,d,e,f}, Martine Duclos^{b,e,f,g}, Nathalie Boisseau^{a,f}.

^a Université Clermont Auvergne, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

^b INRA, Human Nutrition Unit UMR1019, Clermont-Ferrand, France

^c University Hospital Clermont-Ferrand, Biostatistics Unit (DRCI), Clermont-Ferrand, France

^d Département de Human Nutrition, Clermont-Ferrand University Hospital, G. Montpied Hospital, Clermont-Ferrand, France

^e UFR Médecine, University Clermont 1, Clermont-Ferrand, France

^f CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

^g Department of Sport Medicine and Functional Explorations, Clermont-Ferrand University Hospital, G. Montpied Hospital, Clermont-Ferrand, France

ADDITIONAL ARTICLE INFORMATION

At menopause, hormonal and metabolic changes contribute to fat mass expansion and affect body fat distribution, causing an increase in abdominal fat mass (including visceral fat mass). Owing to the combined effect of age, type 2 diabetes (T2D) and visceral obesity, postmenopausal diabetic women are more prone to develop cardiovascular diseases (CV) [2]. Prior to use drugs and surgery, physical activity alone or combined with nutritional management is the first-line treatment [3]. Our group reported in *Diabetes and Metabolism* (42(6):433-441, 2016) that high-intensity intermittent training (HIIT) is more effective in this population than steady state exercise (SSE; more commonly known as moderate intensity continuous training -MICT) in reducing abdominal,

especially visceral, fat mass, which is the most dangerous [4]. However, one limitation of the study was the comparison of two female groups, which meant there were potential inter-individual variabilities in the adaptive responses to each training protocol. The possible bias associated with imbalance in known and unknown confounding variables is reduced in randomized clinical crossover trials recognized as the “gold standard” for evaluating therapeutic effectiveness. To reinforce our previous results, we decided in this additional study to compare body composition changes induced by a 16-week high intensity interval (HIIT) or MICT program in voluntary postmenopausal females by interchanging the two modalities after a 6-month washout period. Ten of the 16 postmenopausal

females who finished the protocol of Maillard et al. [4] accepted to pursue the crossover study the following year (two groups of 5). Whatever the first exercise modality performed (HIIT or MICT), the 6-month washout period did not show differences in body composition changes. Overall, the mean body weight and fat mass (FM) were increased (0.59 ± 0.62 kg and 1.16 ± 0.52 kg, respectively) and the mean total fat-free mass (FFM) was decreased (-0.55 ± 0.50 kg). The mean age of the 10 women was 68 ± 1 years and their body mass index, 32 ± 1 kg.m⁻². The two training programs are detailed in our previous study [4]. Briefly, the HIIT protocol consisted of repeated bouts of sprinting for 8s (around 80% HR_{max}) followed by slow pedaling (20-30 rpm) for 12s (maximum of 60 bouts per 20-min session) whereas women in the MICT group exercised at 55-60% (target HR [THR]) of their individual HR reserve (HRR) for 40 min. After two

exercise sessions per week for 16 weeks both modalities tended to alter body weight and lower-body FM (expressed in kg, time effect: $p = 0.08$) and significantly decreased fat mass (%) and fat-free mass (kg) (time effect: $p = 0.03$). However, the loss of total fat mass expressed in kg was only significant in the HIIT group when expressed as absolute values (modality x time interaction: $p = 0.04$), difference ($p = 0.05$) or delta change ($p = 0.04$). More interestingly, abdominal and visceral FM was only reduced in the HIIT modality (when expressed in absolute values, differences or delta changes). Figure 1 shows the individual response of the 10 women after each training modality confirming that HIIT is more effective than MICT in inducing abdominal and visceral FM loss ($p \leq 0.05$).

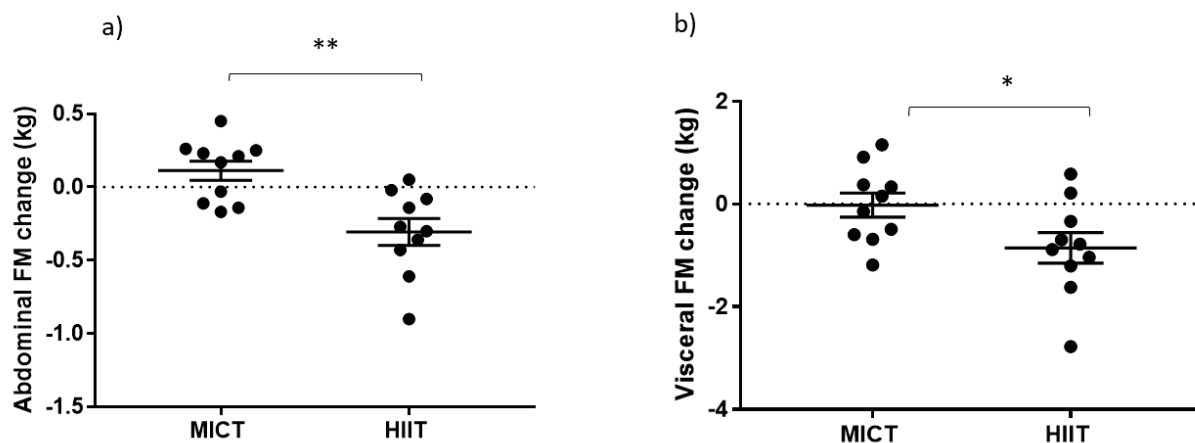


Figure 1. Abdominal (a) and visceral fat mass (b) changes (difference = 16 weeks – baseline) in the same 10 women after each training protocol. Data are means \pm SEM. MICT: moderate-intensity continuous training, HIIT: high-intensity interval training. *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$

These additional data obtained from a randomized crossover design confirm that HIIT is a time-efficient, feasible and effective intervention to modify body composition by reducing abdominal and visceral FM, the most dangerous fat deposits. In the light of these effects, HIIT can be proposed as an alternative strategy to limit cardiovascular risk in postmenopausal overweight/obese females.

Footnotes

Disclosure of interest

The authors have no conflict of interest to disclose.

Author contribution

Significant manuscript writer: FM, NB; Significant manuscript reviewer/reviser: MD, YV, SR; Concept and design: NB, MD; Data acquisition: FM, SR, NB; Data analysis and interpretation: FM, NB; Statistical expertise: BP, FM, NB.

References

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *JAMA*. 2010;303:235–41.

2. Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Weickert MO. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc.* 2006;95:136–47.

3. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults-The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res.* 1998;6 Suppl 2:51S–209S.

4. Maillard F, Rousset S, Pereira B, Traore A, de Pradel Del Amaze P, Boirie Y, Duclos M, Boisseau N. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2016;42:433–41.

5. Martin ML, Jensen MD. Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *J Clin Invest.* 1991;88:609–13.

Publication n°3 (méta-analyse)

Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis

Florie Maillard¹ · Bruno Pereira² · Nathalie Boisseau^{1,3}

© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2017

Abstract

Background High-intensity interval training (HIIT) is promoted as a time-efficient strategy to improve body composition.

Objective The aim of this meta-analysis was to assess the efficacy of HIIT in reducing total, abdominal, and visceral fat mass in normal-weight and overweight/obese adults.

Methods Electronic databases were searched to identify all related articles on HIIT and fat mass. Stratified analysis was performed using the nature of HIIT (cycling versus running, target intensity), sex and/or body weight, and the methods of measuring body composition. Heterogeneity was also determined

Results A total of 39 studies involving 617 subjects were included (mean age 38.8 years \pm 14.4, 52% females). HIIT significantly reduced total ($p = 0.003$), abdominal ($p = 0.007$), and visceral ($p = 0.018$) fat mass, with no differences between the sexes. A comparison showed that running was more effective than cycling in reducing total and visceral fat mass. High-intensity (above 90% peak

heart rate) training was more successful in reducing whole body adiposity, while lower intensities had a greater effect on changes in abdominal and visceral fat mass. Our analysis also indicated that only computed tomography scan or magnetic resonance imaging showed significant abdominal and/or visceral fat-mass loss after HIIT interventions.

Conclusion HIIT is a time-efficient strategy to decrease fat-mass deposits, including those of abdominal and visceral fat mass. There was some evidence of the greater effectiveness of HIIT running versus cycling, but owing to the wide variety of protocols used and the lack of full details about cycling training, further comparisons need to be made. Large, multicenter, prospective studies are required to establish the best HIIT protocols for reducing fat mass according to subject characteristics.

✉ Nathalie Boisseau
nathalie.boisseau@uca.fr

Florie Maillard
florie.maillard@gmail.com

Bruno Pereira
bpereira@chu-clermontferrand.fr

¹ Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), Université Clermont Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand, France

² Biostatistics Unit (DRCI), University Hospital Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

³ CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Key Points

High-intensity interval training protocols are effective in decreasing fat-mass deposits, including abdominal and visceral fat mass.

Comparison of running and cycling shows that running is potentially more successful in reducing total and visceral adipose tissues.

1 Introduction

Currently, 2.1 billion individuals, approximately 30% of the world's population, are overweight or obese [1]. The escalating obesity epidemic in the last decade has been accompanied by an increase in metabolic disorders such

as insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular diseases. The World Health Organization defines overweight and obesity as an abnormal accumulation or excess of fat mass that can adversely affect health [2]. In addition, fat localization is a major determinant of the occurrence of metabolic disorders [3], with abdominal adipose tissue being particularly involved. It is also important to differentiate white adipose tissue in subcutaneous adipose tissue, which is characterized by high storage capacity, from visceral adipose tissue, which is metabolically more active. In visceral adipose tissue, greater lipolysis leads to higher free fatty acid secretion, which in turn results in ectopic deposits and/or direct transport to the liver by the portal vein. Visceral adipose tissue also releases several proinflammatory factors, including proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor [TNF]- α , interleukin [IL]-6, IL-1 β), hormones (leptin, resistin), and other molecules such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), that participate in the establishment of chronic inflammation related to insulin resistance [4]. Visceral adipose tissue is therefore highly correlated with cardiovascular risks [5].

Against this background, effective fat-loss strategies, including dietary or physical activity interventions, or both, are required. In the short- and long-term, programs based on nutritional recommendations alone are less effective than those also including physical activity [6]. Current guidelines recommend moderate-intensity continuous training (MICT) [7], mainly because it can be maintained over a long period, thereby promoting fat mobilization and oxidation [8, 9]. MICT has positive cardiovascular and metabolic effects but it often leads to little or no fat loss [10, 11]. Conversely, emerging evidence on high-intensity interval training (HIIT) suggests that this exercise modality could lead to greater adipose tissue loss than low/moderate continuous training [12–14], and could more effectively reduce abdominal and visceral fat mass, which are the most dangerous fat deposits [15, 16]. Recent systematic reviews and meta-analyses have compared the effects of MICT versus HIIT on fat-mass loss; however, owing to the small number of comparative studies, abdominal and visceral fat mass have not been examined [13, 14]. Thus, the aim of the present meta-analysis was to assess the effectiveness of HIIT in reducing total, abdominal, and visceral fat mass in normal-weight and overweight/obese adults. We also analyzed the issues regarding the nature of HIIT (cycling versus running, target intensity), sex, body weight, and the methods used to measure body composition.

2 Methods

2.1 Literature Search Strategy

A systematic literature search of the PubMed and Google Scholar electronic databases, from January 1980 until July 2017, was conducted using the keywords ‘high-intensity interval training’, ‘high-intensity intermittent exercise’, and ‘aerobic interval training’. The reference list of the publications selected was also manually screened to detect references not found during the initial electronic search. Publications in English and French were retained for analysis.

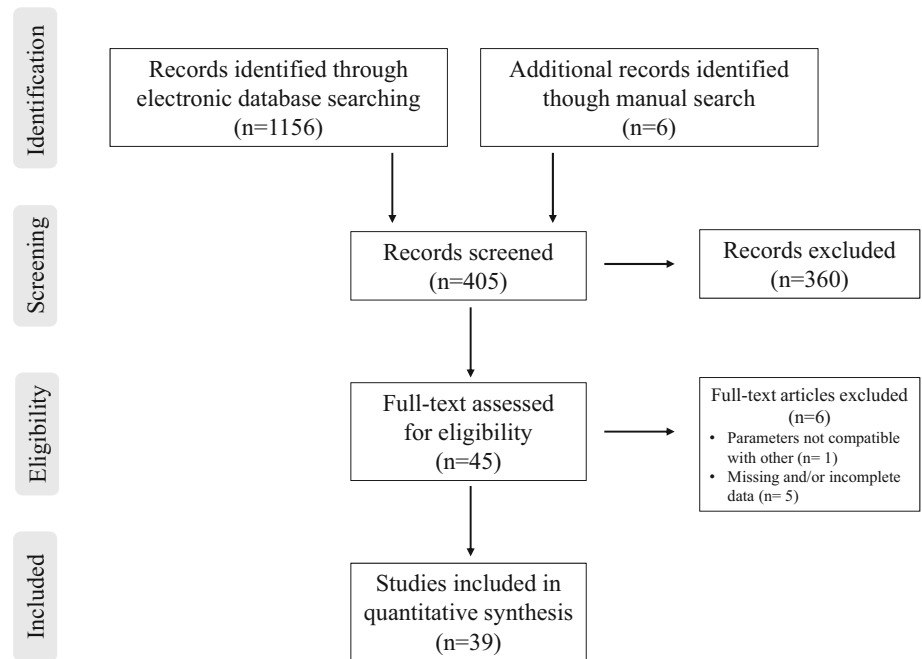
2.2 Inclusion and Exclusion Criteria

2.2.1 Type of Interval Training

In the HIIT modality, short bursts of high-intensity exercise are alternated with periods of lower-intensity effort or complete rest for recovery [17]. In the last few years, HIIT has grown in popularity among athletes or as a strategy to counteract the adverse effects of metabolic disorders [18]. This has led to a wide range of terms to describe HIIT protocols, such as aerobic interval training (AIT) or high-intensity intermittent exercise (HIIE). Recently, Weston et al. suggested a simple classification of the different modalities based on exercise intensity [17]. Accordingly, the term HIIT should be used to design protocols with a target intensity ‘near the maximal’ effort (i.e. between 80 and 100% of the peak heart rate [PHR]), while sprint interval training (SIT) is more appropriate for ‘all out’ or ‘supramaximal’ efforts ($\geq 100\%$ maximal oxygen consumption, $\dot{V}O_{2\max}$). In addition, physiological and metabolic adaptations are different in SIT and HIIT [19, 20]. For these reasons, we excluded from our analysis studies that involved SIT. When publications referred incorrectly to ‘SIT’ or ‘Wingate’ protocols (i.e. when subjects performed with an intensity level below 100% of the PHR), the data were nevertheless included. In our meta-analysis, only running, cycling and elliptical modalities were selected. There was no restriction regarding the duration of the protocol and the HIIT modality.

2.2.2 Type of Subjects

We decided to focus the review on adult subjects (age ≥ 18 years) because training adaptations and carbohydrate and lipid utilization in children and adolescents can be different. Subjects were not restricted by body mass index

Fig. 1 Systematic review process

(BMI), sex, pathologies, or ethnic origins, but high-level athletes were not included.

2.2.3 Outcome Measures

The primary outcome was total body fat mass (kg), while secondary outcomes were abdominal and visceral fat mass (with different units as grams, percentages, cm², or cm³).

2.3 Data Collection or Data Synthesis

The first author (FM) extracted data from studies, with advice from NB on selection criteria. First, the title and abstract were screened, and then, if data were missing or interesting, the full text was analyzed; if it met our criteria, data were extracted. A request for missing data (total fat mass, abdominal fat mass, visceral fat mass, number of male/female subjects before and after the protocol, BMI, and age at the beginning of the study) was sent to corresponding authors when appropriate.

2.4 Statistical Analysis

After extraction, the data were compiled into software designed specifically for meta-analyses (Comprehensive Meta-Analysis, version 2; Biostat, Englewood, NJ, USA). Data included were sample size, and pre- and post-intervention values. The standardized mean differences (paired SMD) were calculated to determine Cohen's *d* for each study, and Hedges' *g* was used to account for potential bias in small sample sizes. Effect sizes (ESs) were calculated

using a random-effects model (DerSimonian and Laird approach) that accounts for true variation in effects occurring from study to study and for random errors within a single study. The random-effects model was preferred to a fixed-effect model as certain experimental parameters had wide variation. The ESs were interpreted according to Cohen, i.e. <0.2 as trivial, 0.2–0.3 as small, 0.5 as moderate, and >0.8 as large [21]. A negative ES value indicates that exercise decreased outcomes, while a positive ES indicates that exercise increased outcomes. The *I*² index was used to measure heterogeneity, with 25, 50, and 75% indicating low, moderate, and high heterogeneity, respectively. In stratified analysis, we arbitrarily chose high-intensity levels as target intensities above 90% of PHR (and low intensity below 90% PHR). To test sensitivity and whether results were biased by a particular study, the analyses were conducted by excluding one study at a time. Funnel plots were used to assess publication bias. In the absence of bias, studies should be distributed evenly around the mean ES because of random sampling error. A meta-regression was performed to measure the impact of sex on variation of parameters.

3 Results

3.1 Study Selection

The search strategy identified 1156 articles from electronic databases, and six other articles were found manually. In total, 360 publications were excluded because of duplicate

Table 1 Characteristics of studies and subjects included in the review

Study	Number of subjects in HIIT group	Female/male	Age (years)	BMI (kg/m ²)	Body composition measurements	Other
Ahmadizad et al. [46]	10	0/10	25.0 ± 1.0	27.7 ± 1.5	Impedance	Healthy sedentary and overweight men
Almenning et al. [47]	10	10/0	25.5 ± 5.0	26.1 ± 6.5	Impedance	Polycystic ovary syndrome
Arad et al. [48]	14	14/0	29.0 ± 4.0	32.5 ± 3.6	DXA VAT:MRI	Healthy overweight/obese women
Cassidy et al. [49]	14	NR	61.0 ± 9.0	31.0 ± 5.0	Plethysmography VAT:MRI	T2D
Coquart et al. [50]	10	10/0	52.0 ± 7.3	38.2 ± 7.9	Impedance	Obese women T2D
Coquart et al. [50]	10	10/0	51.2 ± 6.5	37.0 ± 3.8	Impedance	Obese women without T2D
Eimarieskandari et al. [51]	7	7/0	22.3 ± 0.9	29.2 ± 0.8	Impedance	Obese young girls
Fex et al. [24]	16	12/4	60.4 ± 6.1	34.6 ± 5.4	DXA	Pre-and T2D
Fisher et al. [52]	15	0/15	20.0 ± 1.5	30.0 ± 3.1	DXA	Sedentary overweight/obese men
Gahreman et al. [53]	12	0/12	26.1 ± 2.4	28.7 ± 2.8	DXA	Healthy volunteers
Gillen et al. [22]	8	8/0	27.0 ± 7.0	29.0 ± 3.0	DXA	Overweight/obese women—fed
Gillen et al. [22]	8	8/0	27.0 ± 9.0	29.0 ± 4.0	DXA	Overweight/obese women—fasted
Guadalupe-Grau et al. [54]	11	3/8	54.5 ± 8.7	32.8 ± 1.9	DXA	Metabolic syndrome patients Postmenopausal women
Hallsworth et al. [55]	12	NR	54.0 ± 10.0	31.0 ± 4.0	Plethysmography VAT:MRI	Non-alcoholic fatty liver disease
Heydari et al. [56]	25	0/25	24.7 ± 4.8	28.4 ± 2.5	DXA VAT:CT scan	Inactive overweight men
Hornbuckle et al. [57]	16	16/0	32.1 ± 7.0	36.8 ± 4.3	DXA	Overweight and obese African-American women
Hutchison et al. [23]	20	20/0	29.5 ± 1.4	37.4 ± 1.5	DXA VAT:CT scan	Overweight women—polycystic ovary syndrome
Hutchison et al. [23]	14	14/0	35.0 ± 4.1	35.7 ± 4.9	DXA VAT:CT scan	Overweight women—no polycystic ovary syndrome
Hwang et al. [58]	17	11/6	64.8 ± 5.8	28.0 ± 4.5	DXA VAT:DXA	Healthy sedentary older adults
Karstoft et al. [59]	12	5/7	57.5 ± 8.3	29.0 ± 4.5	DXA VAT:MRI	T2D
Kong et al. [60]	11	10/0	19.8 ± 0.8	25.5 ± 2.1	DXA	Overweight and obese young women
Maillard et al. [16]	8	8/0	69.0 ± 2.8	32.6 ± 4.8	DXA VAT:CT scan	T2D postmenopausal
Martins et al. [61]	13	9/4	33.9 ± 7.8	33.2 ± 3.5	DXA	Sedentary obese individuals—protocol 1
Martins et al. [61]	9	5/4	34.1 ± 7.1	32.4 ± 2.9	DXA	Sedentary obese individuals—protocol 2
Matinhomae et al. [62]	10	0/10	31.4 ± 10.2	29.2 ± 1.6	DXA	Healthy overweight men
Nikseresht et al. [63]	12	0/12	39.6 ± 3.7	30.0 ± 1.7	Skinfold	Healthy obese men
Panissa et al. [64]	11	11/0	28.4 ± 12.5	25.94 ± 4.1	Skinfold	Untrained women
Ramos et al. [65]	24	NR	57.0 ± 11.0	NR	DXA	Metabolic syndrome—protocol 1
Ramos et al. [65]	24	NR	57.0 ± 7.0	NR	DXA	Metabolic syndrome—protocol 2
Sandstad et al. [66]	7	7/0	32.4 ± 8.3	24.8 ± 4.9	Impedance	Rheumatic disease
Sasaki et al. [67]	12	0/12	NR	24.3 ± 0.7	Impedance Abdominal FM and VAT:MRI	Healthy sedentary men

Table 1 continued

Study	Number of subjects in HIIT group	Female/male	Age (years)	BMI (kg/m ²)	Body composition measurements	Other
Sawyer et al. [25]	11	6/5	35.7 ± 8.2	37.4 ± 6.2	DXA	Obese adults
Schjerve et al. [68]	14	11/3	46.9 ± 8.2	36.6 ± 4.5	DXA	Obese adults
Shepherd et al. [69]	46	30/12	42±11.0	27.7±5.0	Impedance	Inactive overweight adults
Smith-Ryan et al. [70]	10	0/10	40.6 ± 12.1	28.4 ± 1.3	DXA	Overweight/obese men—protocol 1
Smith-Ryan et al. [70]	10	0/10	36.5 ± 12.3	32.1± 4.4	DXA	Overweight/obese men—protocol 2
Steckling et al. [71]	17	17/0	54.2 ± 6.2	30.7 ± 5.0	Impedance	Untrained metabolic syndrome women
Stensvold et al. [72]	11	4/7	49.9 ± 10.1	31.3 ± 4.3	DXA	Metabolic syndrome
Terada et al. [31]	8	4/4	62.0 ± 3.0	28.4± 4.1	DXA	T2D
Tjønnna et al. [73]	13	0/13	41.8 ± 3.6	27.8 ± 1.8	DXA	Healthy overweight men—protocol 1
Tjønnna et al. [73]	13	0/13	42.2 ± 2.4	27.0 ± 2.1	DXA	Healthy overweight men—protocol 2
Trapp et al. [15]	15	15/0	22.4 ± 2.7	24.4 ± 5.8	DXA	Healthy normal-weight women
Wallman et al. [74]	7	6/1	40.9 ± 11.7	31.4 ± 2.6	DXA	Overweight/obese adults
Zhang et al. [75]	14	14/0	21.0±1.0	25.8 ± 2.7	Impedance VAT:CT scan	Overweight women
Zhang et al. [76]	16	16/0	21.5 ± 1.7	25.4 ± 2.4	DXA VAT:CT scan	Overweight women
Ziemann et al. [77]	10	0/10	21.6 ± 1.1	24.5 ± 1.8	Impedance	Recreationally active males

Data are expressed as mean ± SD; in instances where the results were presented as mean ± SEM, SEM was converted to SD

BMI body mass index, *CT* computed tomography, *DXA* dual-energy X-ray absorptiometry, *FM* fat mass, *HIIT* high-intensity interval training, *MRI* magnetic resonance imaging, *NR* not reported, *SD* standard deviation, *SEM* standard error of the mean, *T2D* type 2 diabetes, *VAT* visceral adipose tissue

keywords or after title and/or abstract analysis. Of the remaining articles, 45 fulfilled our inclusion criteria. Among the 34 authors contacted for further details, 11 did not respond, therefore their publications were excluded. The final number of publications included in our meta-analysis was 39 (35 for total fat mass, 20 for abdominal fat mass, and 14 for visceral fat mass) (Fig. 1).

3.2 Subject Characteristics

Subject characteristics are summarized in Table 1. Overall, 617 subjects were included in the meta-analysis. Four studies gave no sex breakdown, and, in the remaining studies (*n* = 35) there were more women (321) than men (217). In accordance with the inclusion criteria, subjects were adults, with a mean age ranging from 19.8 ± 0.8 to 69 ± 2.8 years. All but two studies recruited overweight or obese subjects, whose BMI ranged from 25.4 ± 2.4 to 38.2 ± 7.9 kg/m². Some subjects had conditions that could have influenced the effects of physical activity: type 2 diabetes (*n* = 6), polycystic ovary syndrome (*n* = 2),

hormonal state (menopause; *n* = 2), non-alcoholic fatty liver disease (*n* = 1), metabolic syndrome (*n* = 5), and rheumatic disease (*n* = 1).

3.3 High-Intensity Interval Training Program Characteristics

The HIIT programs are summarized in Table 2. Of the HIIT studies, 26 used cycling and 13 used running, with 4 studies offering a choice between the two. Only one study tested an elliptical modality. The most widely used protocol consisted of alternate 4 min at high intensity followed by 3 min of recovery (*n* = 12). Other programs used shorter times (8 s or 1 min) at high intensity. When specified, recovery was active in all but one study. The programs ranged in duration from 4 weeks to 6 months but generally lasted at least 12 weeks. Except in nine protocols, there were three HIIT sessions a week. Half of the studies used high-intensity training, defined in this meta-analysis as exercise at intensities above 90% PHR.

Table 2 HIIT protocol details

Study	Exercise modality	HIIT protocol	Durations	Frequency (per week)	Intensity ^a (high or low)
Ahmadizad et al. [46]	Running	8 × [1–1.5' (90% $\dot{V}O_2\text{max}$)/2–3']	6 weeks	3	H
Almenning et al. [47]	Running or cycling	4 × [4' (90–95% HRmax)/3' (70% HRmax)] + 1/week: 10': 1' (100% of max. effort)/1'	10 weeks	3	H
Arad et al. [48]	Cycling	24' [30–60 s (75–90% HRR)/180–210 (50% HRR)]	14 weeks	3	L
Cassidy et al. [49]	Cycling	5 × [3'50 s (RPE: 16–17)/90 s passive R]	12 weeks	3	NR
Coquart et al. [50]	Cycling	32': 2' (80% VT)/2' (120% VT)	10 weeks	3	L
Eimarieskandari et al. [51]	Running	25': [4' (80–90% $\dot{V}O_2\text{peak}$ (85–95% of HRpeak))/3' (50–60% of $\dot{V}O_2\text{peak}$ (50–70% of HRpeak) R]	8 weeks	3	L
Fex et al. [24]	Elliptical	20': 30 s [(80–85% HRmax)/1' 30 active R]	12 weeks	3	L
Fisher et al. [52]	Cycling	20': 4 × [4' (15% MAPmax)/30 s (85% MAPmax)] + 2' between sets at 15% MAPmax	6 weeks	3	L
Gahreman et al. [53]	Cycling	60 × [8 s (85–90% HRmax; 100 and 120 RPM/12s active R; 50–60 RPM)]	12 weeks	3	L
Gillen et al. [22]	Cycling	10 × [60 s (90% HRmax)/60s]	6 weeks	3	H
Gillen et al. [22]	Cycling	10 × [60 s (90% HRmax)/60s]	6 weeks	3	H
Guadalupe-Grau et al. [54]	Cycling	4 × [4' (90% HRmax)/3' (70% HRmax) R]	6 months	3	H
Hallsworth et al. [55]	Cycling	5 × [2–3' 50 (16–17 RPE)/3' R]	12 weeks	3	H
Heydari et al. [56]	Cycling	60 × [8 s (80–90% HRpeak)/12 s]	12 weeks	3	L
Hornbuckle et al. [57]	Running	32': 3' (60–70% HRmax)/1' (80–90%) HRmax	16 weeks	3	L
Hutchison et al. [23]	Running	6–8 × [5' (95–100% HRmax)/2 – 1' R] + 1 session: 60' at 75–85% HRmax (70% $\dot{V}O_2\text{max}$)	12 weeks	3	H
Hwang et al. [58]	Cycling	4 × [4' (90% HRpeak)/3' R (70% HRpeak)]	8 weeks	4	H
Karstoft et al. [59]	Running	60': 3' (70% peak energy-expenditure rate)/3' active R	16 weeks	5	L
Kong et al. [60]	Cycling	60 × [(8 s/12 s) R]	5 weeks	4	NR
Maillard et al. [16]	Cycling	20': 60 × [8 s (77–83% HRmax/12s active R)]	16 weeks	2	L
Martins et al. [61]	Cycling	250 kcal: [8 s (85–90% HRmax)/12s) R]	12 weeks	3	L
Martins et al. [61]	Cycling	125 kcal: [8s (85–90%) HRmax/1s) R]	12 weeks	3	L
Matinhomae et al. [62]	Running	6–12 × [60s (85–90% HRR)/60s (55–60% HRR)]	12 weeks	3	L
Nikseresht et al. [63]	Running	4 × [4' (80–90% HRmax)/3' (55–65% HRmax)]	12 weeks	3	L
Panissa et al. [64]	Cycling	15 × [1' (90% HRmax)/30s (60% HRmax) R]	6 weeks	3	H
Ramos et al. [65]	Running or cycling	4 × [4' (85–95% HRpeak)/3' R (50–70% HRpeak)]	16 weeks	3	L
Ramos et al. [65]	Running or cycling	1 × [4' (85–95% HRpeak)]	16 weeks	3	L
Sandstad et al. [66]	Cycling	4 × [4' (85–95% HRmax)/3' (70% HRmax)]	10 weeks	2	L
Sasaki et al. [67]	Cycling	10 × [1' (85% $\dot{V}O_2\text{max}$)/30s R]	4 weeks	3	L

Table 2 continued

Study	Exercise modality	HIIT protocol	Durations	Frequency (per week)	Intensity ^a (high or low)
Sawyer et al. [25]	Cycling	10 × [1' (90–95% HRmax)/1' active R]	8 weeks	3	H
Schjerve et al. [68]	Running	4 × [4' (85–95% HRmax)/3' (50–60% HRmax)]	12 weeks	3	L
Shepherd et al. [69]	Cycling	18–25': [15–60s (90% HRmax)/45–120 s active R]	10 weeks	3	H
Smith-Ryan et al. [70]	Cycling	5 × [2' (80–100% $\dot{V}O_2$ peak)/1']	3 weeks	3	H
Smith-Ryan et al. [70]	Cycling	10': 10 × [1' (90% power peak/1')]	3 weeks	3	H
Steckling et al. [71]	Running	4 × [4' (90% HRmax)/3' (70% HRmax) R]	12 weeks	3	H
Stensvold et al. [72]	Running	4 × [4' (90–95% HRpeak)/3' (70% HRpeak)]	10 weeks	3	H
Terada et al. [31]	Running or cycling	30–60' [1' (100% $\dot{V}O_2R$)/3' R (20% $\dot{V}O_2R$], but the 1 day per week HIIT group performed MICT	12 weeks	5	H
Tjønnå et al. [73]	Running	1 × [4' (90% HRmax)]	10 weeks	3	H
Tjønnå et al. [73]	Running	4 × [4' (90% HRmax)/3' (70% HRmax)]	10 weeks	3	H
Trapp et al. [15]	Cycling	20': 60 × (8 s/12 s)	15 weeks	3	NR
Wallman et al. [74]	Cycling	1' (90% $\dot{V}O_2$ peak)/2' (30% $\dot{V}O_2$ peak) R + diet education	8 weeks	4	H
Zhang et al. [75]	Running	4 × [4' (85–95% HRpeak)/3' (50–60% HRpeak) with 7' rest between sets]	12 weeks	4	L
Zhang et al. [76]	Cycling	300 kJ: 4' (90% max)/3' R)	12 weeks	3	H
Ziemann et al. [77]	Cycling	6 × [90s (80% $p\dot{V}O_2$ max)/180 s R)]	6 weeks	3	L

H high, HIIT high-intensity interval training, HRmax maximum heart rate, HRpeak peak heart rate, HRR heart rate reserve, L low, MAP maximal aerobic power, max. maximum, MICT moderate-intensity continuous training, NR not reported, $p\dot{V}O_2$ max power at $\dot{V}O_2$ max, R recovery, RPE ratings of perceived exertion, RPM revolutions per minute, $\dot{V}O_2$ max maximum oxygen concentration, $\dot{V}O_2$ peak peak oxygen consumption, $\dot{V}O_2R$ oxygen consumption reserve, VT ventilatory threshold, $v\dot{V}O_2$ velocity corresponding to $\dot{V}O_2$ max

^aHigh intensity is defined as intensity superior to 90% peak heart rate

3.4 Body Composition Assessments

Most of the studies ($n = 30$) used a dual-energy X-ray absorptiometry (DXA; the ‘gold standard’ method) to determine whole-body fat mass. Others used less accurate and/or repeatable methods, such as impedance ($n = 11$), plethysmography ($n = 2$) or skinfold measurements ($n = 2$), of which the last was recognized as the least reliable. Computed tomography (CT) scan and magnetic resonance imaging (MRI) were widely used to assess abdominal or visceral fat mass. The most recent DXA scans can also measure abdominal fat mass in different anatomical regions [22, 23] and estimate visceral fat-mass content [24, 25].

3.5 Meta-Analysis

3.5.1 Total Fat Mass

As shown in Fig. 2a, HIIT resulted in a reduction of total fat mass (ES -0.2 , 95% confidence interval [CI] -0.31 to -0.07 , $I^2 = 0.0\%$) of approximately 2 kg. Stratified analysis of exercise modalities showed that running (ES -0.34 , 95% CI -0.56 to -0.12 , $I^2 = 0.0\%$) was more effective than cycling (ES -0.13 , 95% CI -0.3 to 0.04 , $I^2 = 0.0\%$) in decreasing total fat mass (Fig. 2b). The greatest HIIT effect was observed with protocols using high-intensity exercises (i.e. $>90\%$ PHR) [ES -0.21 , 95% CI -0.38 to -0.04 , $I^2 = 0.0\%$]; however, a trend was observed for low-intensity programs (ES -0.18 , 95% CI

(a)

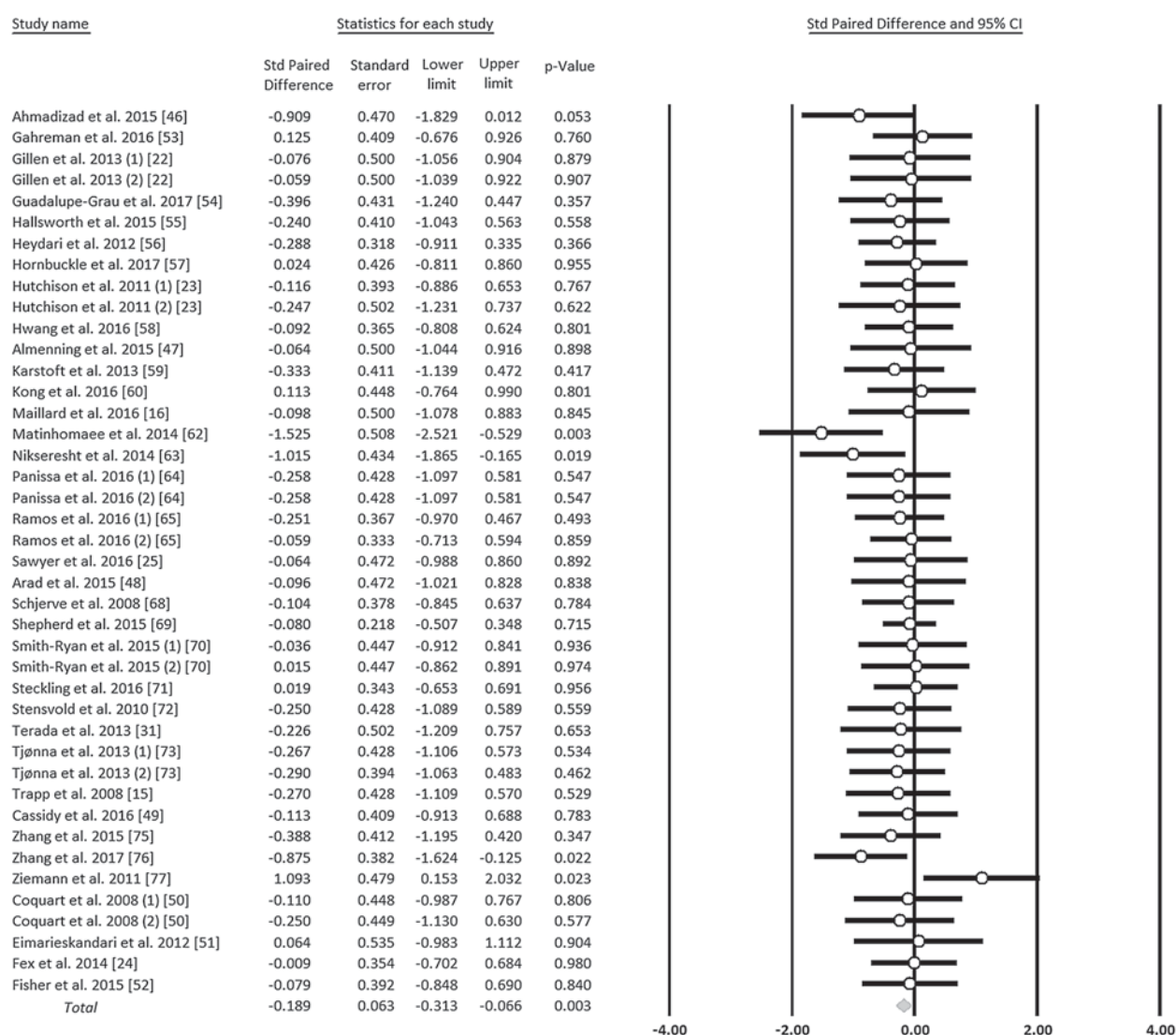


Fig. 2 Forest plot for the HIIT effect on (a) total fat mass (kg), (b) with stratified analysis of exercise modalities, (c) intensities, and (d) body weight. 1 and 2 represent the same study but different HIIT

–0.37 to 0.01, $I^2 = 14.5\%$) (Fig. 2c). Comparison of normal-weight and overweight/obese subjects showed that HIIT protocols decreased total fat mass only in patients with excess adiposity (ES 0.34, 95% CI –0.29 to 0.96, $I^2 = 77.7\%$; ES –0.21, 95% CI –0.34 to –0.08, $I^2 = 0.0\%$; respectively) (Fig. 2d). When normal-weight subjects were excluded from the analysis and only overweight/obese subjects were taken into consideration, significance persisted and was improved. There was no difference between male and female subjects in HIIT-induced fat-mass loss ($p = 0.34$).

protocols. *CI* confidence interval, *HIIT* high-intensity interval training, *NR* not reported, *Std* standardized

3.5.2 Abdominal Fat Mass

Figure 3a shows that HIIT reduced abdominal fat mass (ES –0.19, 95% CI –0.32 to –0.05, $I^2 = 0.0\%$). The first stratified analysis of exercise modalities showed that, in contrast to results on total fat mass, cycling was more effective in decreasing abdominal fat mass (ES –0.24, 95% CI –0.40 to –0.08, $I^2 = 58.1\%$) than running (ES –0.05, 95% CI –0.41 to 0.31, $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 3b). The second stratified analysis, involving method assessment, showed that CT scan (ES –0.33, 95% CI –0.56 to –0.1, $I^2 = 0.0\%$) detected more reductions in abdominal fat

(b)

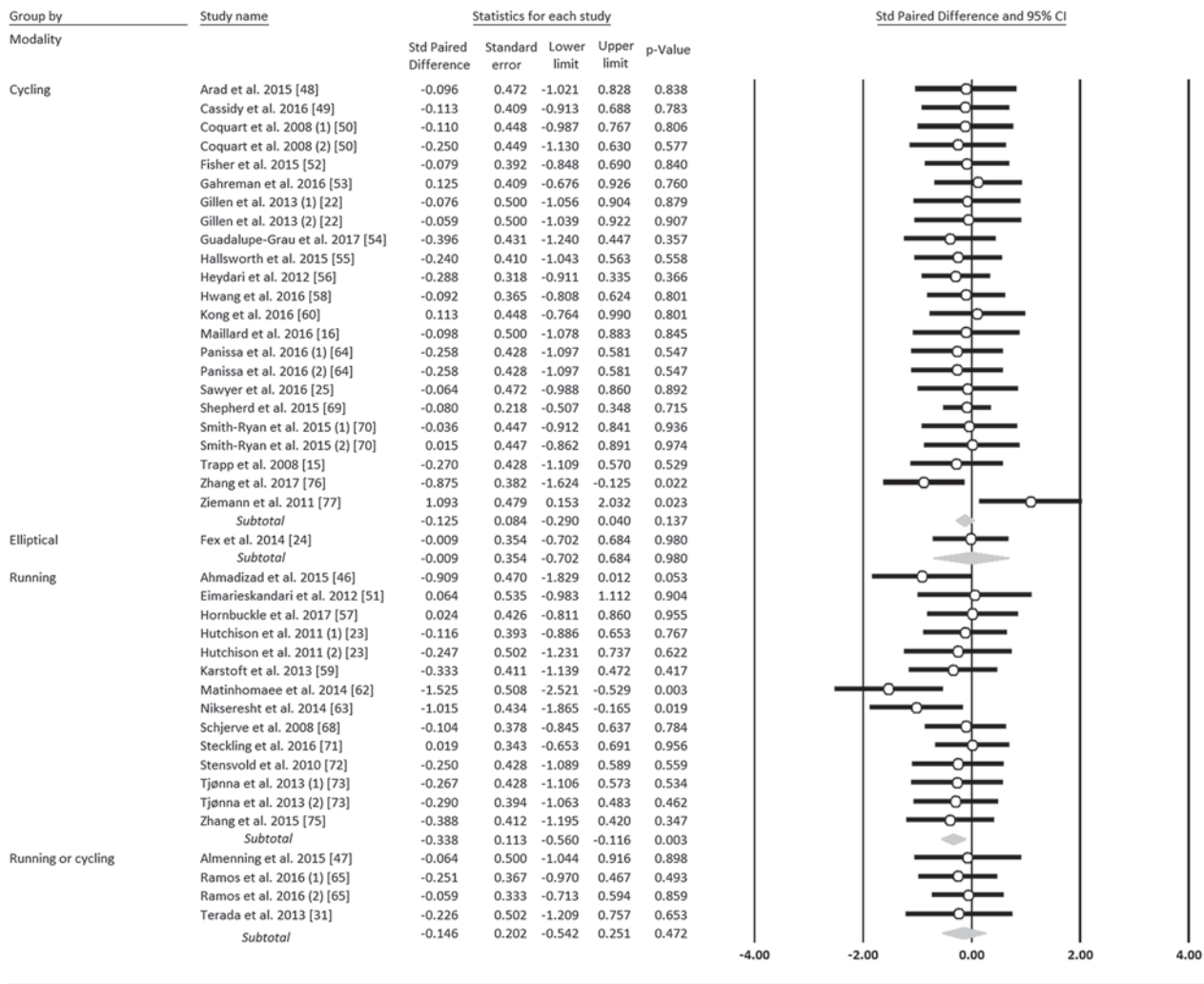


Fig. 2 continued

mass after HIIT than DXA scan (ES -0.12 , 95% CI -0.30 to 0.06 , $I^2 = 0.0\%$) and impedance (ES -0.08 , 95% CI -0.51 to 0.35 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 3c). Low-intensity training reduced abdominal adiposity (ES -0.21 , 95% CI -0.40 to -0.02 , $I^2 = 0.0\%$), but no effect was observed at higher intensities (ES -0.18 , 95% CI -0.41 to 0.05 , $I^2 = 17.0\%$) (Fig. 3d). HIIT decreased abdominal fat mass in overweight/obese subjects only (ES -0.19 , 95% CI -0.33 to -0.05 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 3e). When normal-weight subjects were excluded from the analysis and only overweight/obese subjects were taken into consideration, significance persisted and was improved. There was no difference between male and female subjects in HIIT-induced abdominal fat-mass loss ($p = 0.70$).

3.5.3 Visceral Fat Mass

As shown in Fig. 4a, HIIT decreased visceral fat mass (ES -0.24 , 95% CI -0.44 to -0.04 , $I^2 = 0.0\%$). A stratified analysis showed that only running reduced visceral fat mass (ES -0.44 , 95% CI -0.86 to -0.02 , $I^2 = 0.0\%$), while a trend was observed for cycling (ES -0.21 , 95% CI -0.46 to 0.04 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 4b). Another stratified analysis showed that no study with DXA scan (ES -0.30 , 95% CI -0.57 to 0.51 , $I^2 = 0.0\%$) resulted in visceral fat-mass changes (ES -0.30 , 95% CI -0.52 to -0.07 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 4c). As observed for abdominal fat mass, protocols using intensities $<90\%$ PHR decreased visceral fat mass (ES -0.31 , 95% CI -0.57 to -0.05 , $I^2 = 0.0\%$),

(c)

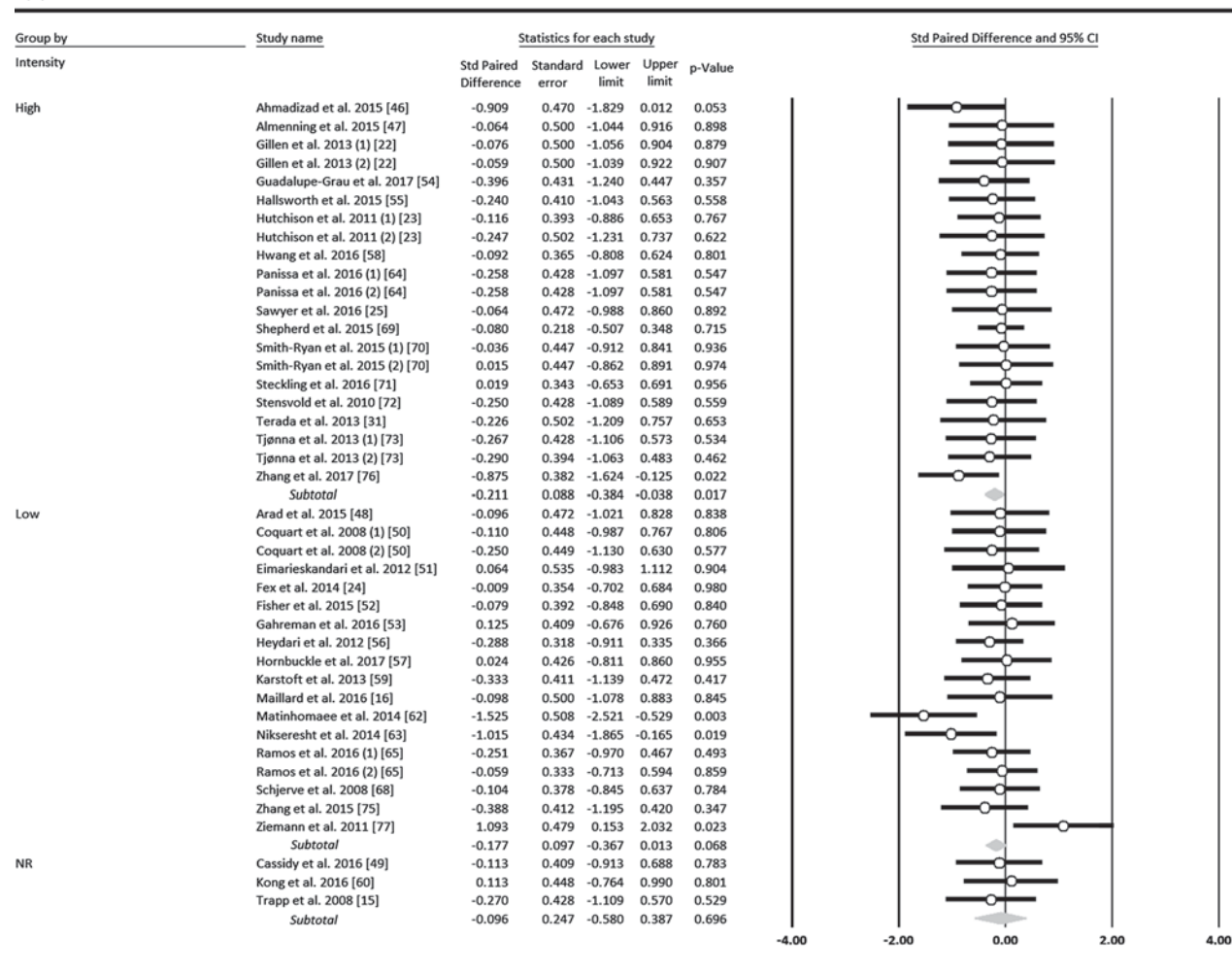


Fig. 2 continued

but not at an intensity above 90% PHR (ES -0.13 , 95% CI -0.47 to 0.22 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 4d). HIIT was only successful in overweight/obese subjects (ES -0.26 , 95% CI -0.47 to -0.05 , $I^2 = 0.0\%$) (Fig. 4e). As reported for total and abdominal fat mass, when normal-weight subjects were excluded from the analysis and only overweight/obese subjects were taken into consideration, significance persisted and was improved. There was no difference between male and female subjects in HIIT-induced visceral fat-mass loss ($p = 0.69$).

4 Discussion

The present study is the first meta-analysis to investigate the effect of HIIT interventions on total, abdominal, and visceral adipose tissues in non-athlete subjects. The review involved 617 subjects (48% male and 52% female, mean age 38.8 ± 14.4 years, mean BMI 30.3 ± 4.0 kg/m²)

included in 39 studies (35 evaluating total fat mass, 19 abdominal fat mass, and 14 visceral fat mass). Only two studies were performed with normal-weight subjects, with the others involving overweight or obese patients. Our results showed that HIIT programs are effective in significantly reducing total, abdominal, and visceral fat mass in both males and females. These beneficial effects only occurred in overweight and obese subjects. Comparisons of running and cycling indicated that running is more effective in reducing total and visceral fat mass. High intensities (above 90% of PHR) seem more likely to reduce whole-body adiposity and lower intensities more successful in reducing abdominal and visceral fat mass. Finally, our analysis demonstrated that only CT scan or MRI studies showed significant abdominal and/or visceral fat-mass changes after HIIT interventions.

The HIIT modality is well tolerated, safe, and is a time-efficient strategy for improving patient health [26]; however, it should not be proposed to patients with

(d)

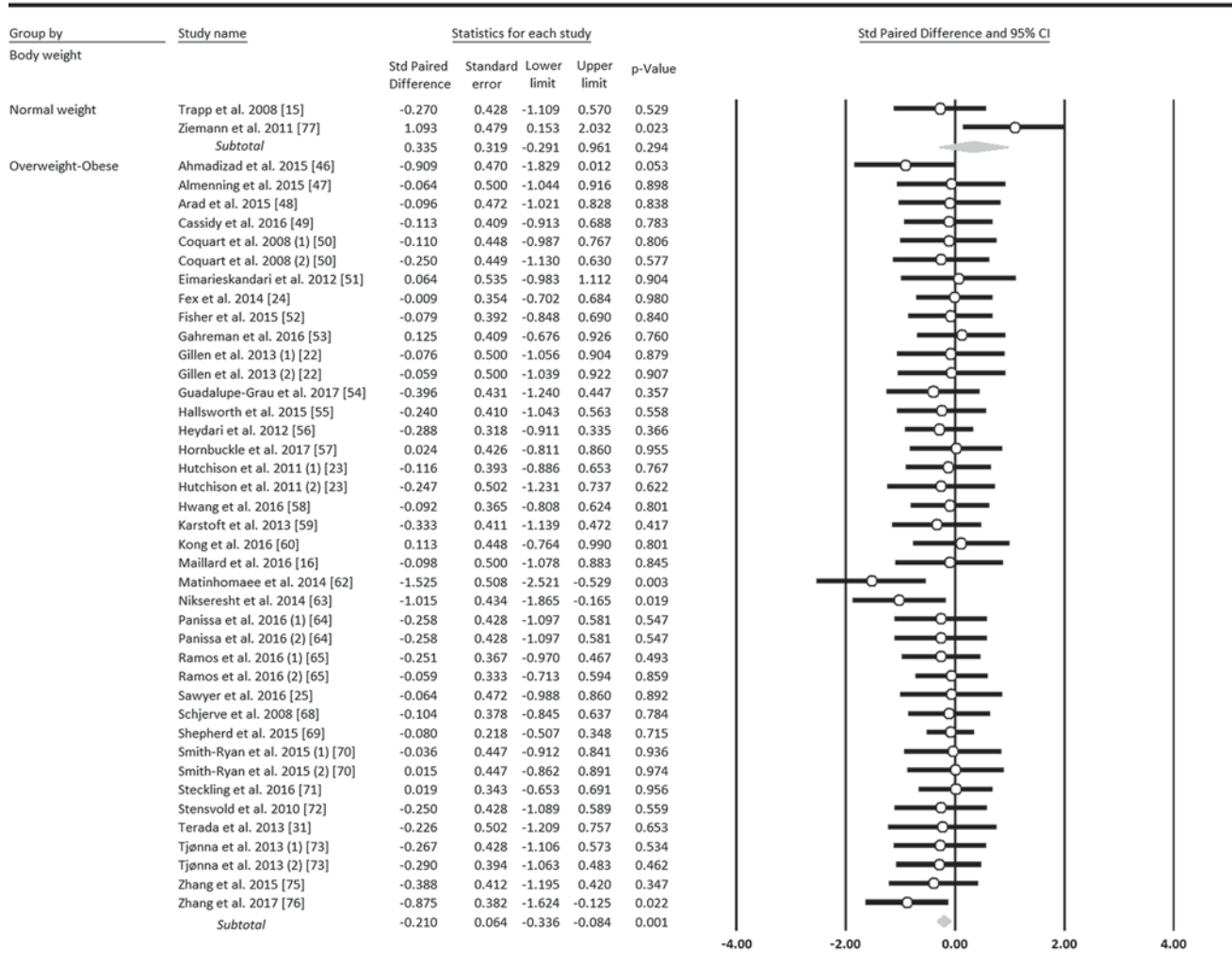


Fig. 2 continued

uncontrolled type 2 diabetes or hypertension, or after recent cardiac events [17]. For these patients, and for individuals with a high level of sedentary life/inactivity, the American College of Sports Medicine (ACSM) recommends reaching a ‘base fitness level’ by 20- to 60-min sessions, three to five times prior to beginning any training program [7].

The primary finding of our analysis is that HIIT significantly reduces whole-body fat mass. This result is in agreement with the results of recent reviews by Wewege et al. [14], who reported a mean loss of approximately 2 kg after HIIT protocols, and Keating et al. [13], who reported a loss of approximately 6% of body weight. The main objective of these two meta-analyses was to compare the effects of HIIT versus MICT, or HIIT/SIT versus MICT, on whole-body fat mass; however, owing to the comparative nature of their reviews, the number of studies analyzed was much smaller ($n = 13$ and $n = 28$, respectively) than in our

meta-analysis ($n = 35$). In addition, these reviews did not perform a meta-analysis of HIIT-induced abdominal and/or visceral fat-mass changes and included no specific results regarding the effects of sex and body adiposity.

HIIT or SIT protocols were *prima facie* used in high-level athletes for increasing $\dot{V}O_2$ max and/or reducing the percentage of fat mass before a competition [27, 28]. The use of HIIT interventions in overweight/obese patients is more recent and interest in HIIT-induced fat-mass loss in normal-weight subjects is still limited. This probably explains the small number of studies ($n = 2$) in our meta-analysis dealing with normal-weight patients. With these limitations (only two HIIT modalities, 21 subjects tested), no significant effect emerged from our analysis of HIIT-induced total fat-mass loss in this population. The sensitivity test performed (excluding normal-weight subjects) confirmed the finding that HIIT is more likely to decrease

(a)

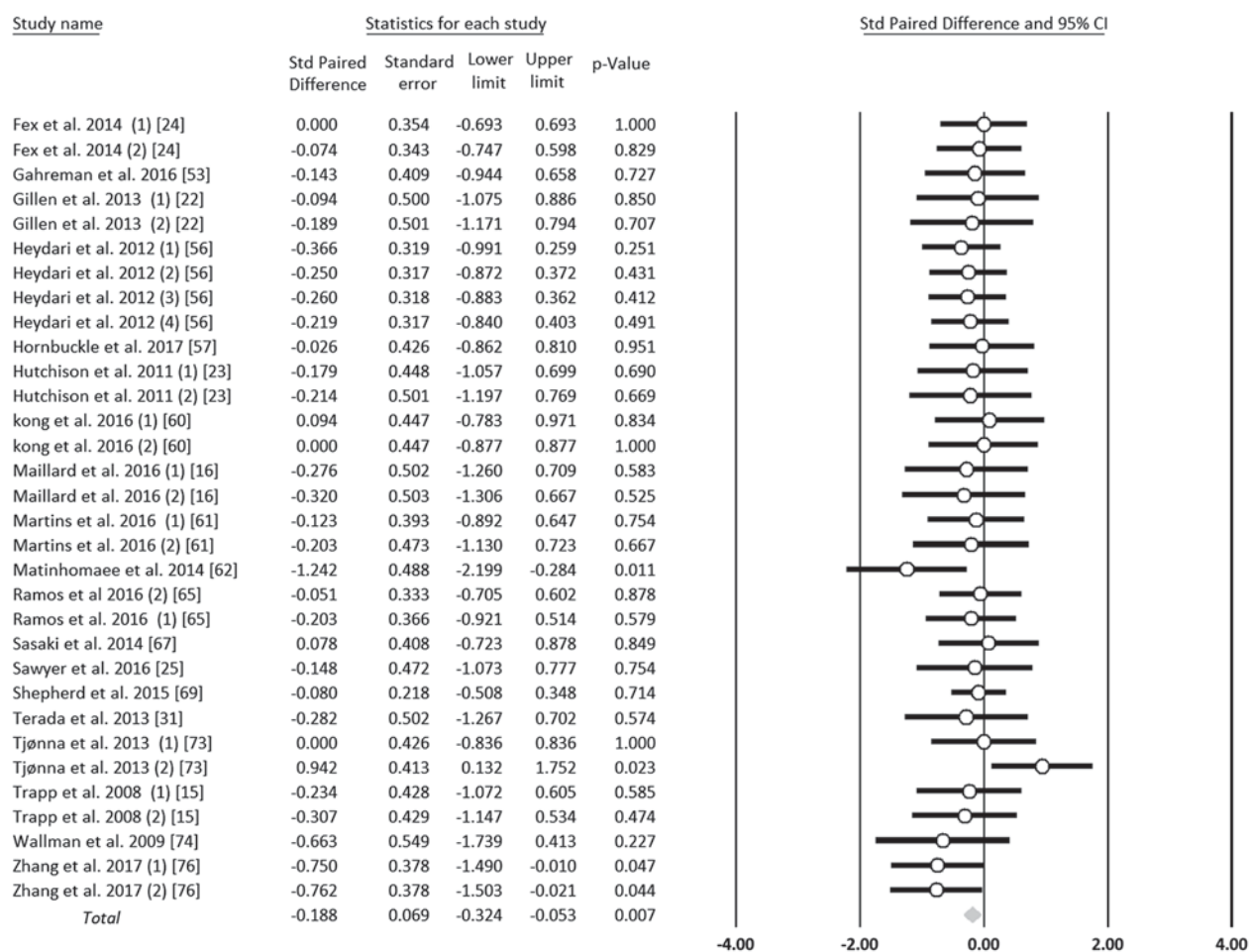


Fig. 3 Forest plot for the HIIT effect on (a) abdominal fat mass, (b) with stratified analysis of exercise modalities, (c) methods of measuring body composition, (d) intensities, and (e) body weight. 1–4 represent the same study but different HIIT protocols. *CI* confidence

interval, *CT* computed tomography, *DXA* dual-energy X-ray absorptiometry, *HIIT* high-intensity interval training, *MRI* magnetic resonance imaging, *NR* not reported, *Std* standardized

total fat-mass loss in overweight/obese subjects (overall: $p = 0.003$; overweight/obese subjects only: $p = 0.001$).

The second finding was the impact of HIIT programs on abdominal and visceral fat mass. Documented reports have shown that effective abdominal/visceral fat-loss strategies should include a hypocaloric diet or physical activity, or both [29]; however, the best results are obtained when the two strategies are combined [6]. The recent meta-analysis of Verheggen et al. [30] confirmed that diet or training alone can significantly alter visceral fat mass, but generally to a greater extent overall with exercise ($p = 0.08$). In this review [30], 117 studies (4815 subjects) were included and, in the absence of weight loss, the authors showed that exercise is still related to a 6.1% decrease in visceral adipose tissue. In the literature, of the 12 publications that compared the effects of HIIT versus MICT on abdominal/

visceral fat-mass loss, only 6 reported an effect of HIIT or a greater effect of this modality, 3 reported an equivalent effect, and 3 did not find any significant difference between the two modalities. In our review, we separately assessed the effects of HIIT on abdominal (18 studies) and visceral (14 studies) adipose tissues using different methods, including DXA, CT scan, and MRI. One drawback of the present meta-analysis with regard to the assessment of abdominal fat was the region chosen by the authors to represent ‘abdominal adiposity’. Three areas, designated ‘abdominal’ ($n = 14$), ‘trunk’ ($n = 12$), or ‘android region or area’ ($n = 6$), were used in the publication analyzed, but most of the time represented different anatomic regions. In relation to visceral fat mass, the data were more homogeneous since most of the studies analyzed the L4-L5 junction. Our results showed that HIIT significantly reduced

(b)

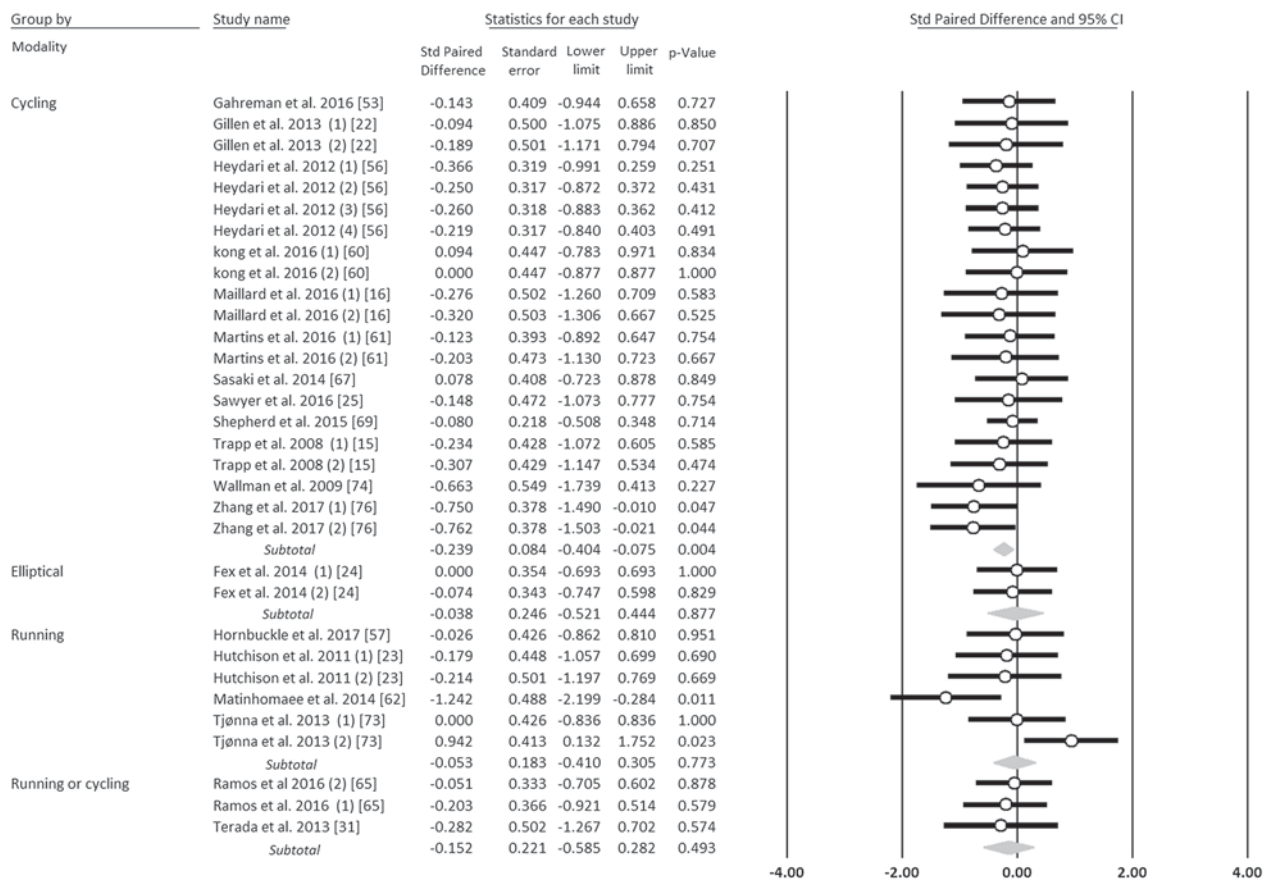


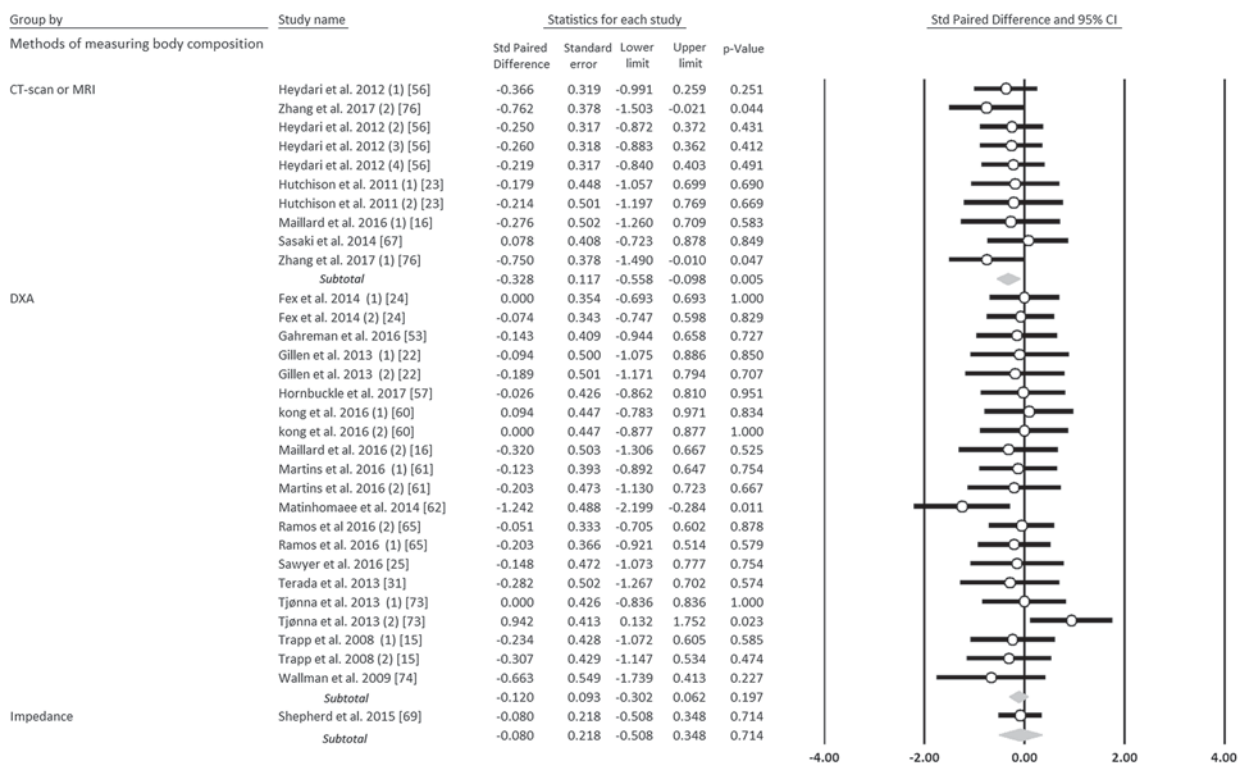
Fig. 3 continued

abdominal ($p = 0.007$) and visceral ($p = 0.018$) fat mass, with no difference between males and females. When the statistical analysis was performed in only normal-weight subjects, the results did not show any effect of HIIT on abdominal/visceral adipose tissue. However, the analyses of abdominal and visceral fat mass related to only three and two publications, respectively. In conclusion, HIIT is an efficient method to reduce central adiposity, at least in overweight/obese patients, which suggests that it could favorably contribute to decreasing the risks of cardiovascular disease. Furthermore, the effects of HIIT, when compared with those of MICT, seem more likely to decrease abdominal/visceral adipose tissue than endurance training [16, 31]. However, additional research is required to fully understand the mechanisms underlying abdominal/visceral fat reduction induced by HIIT programs.

The third finding to emerge from this meta-analysis was that running is more effective than cycling in reducing total and visceral fat mass, and that cycling is more successful in decreasing total abdominal fat mass. Physiological,

metabolic and ergogenic responses differ between running and cycling. Running promotes larger muscle mass than cycling and the type of muscle contraction during running (concentric and eccentric) contributes to greater fat oxidation at the same relative intensity [32, 33]. In addition, excess post-exercise oxygen consumption (EPOC) is greater (+ 37%) after a running session than after a cycling session, as shown in the study by Cunha et al. comparing HIIT and MICT treadmill protocol in overweight men (exercises performed at 75% of oxygen uptake reserve, running session corresponding to 400 kcal, and interval training including two series of 200 kcal) [34]. In addition, plasma lactate concentrations are higher in cycling [34], which reflects greater carbohydrate utilization [33]. Together, these results could explain the greater effect of running on decreasing total fat mass. However, it is more difficult to explain the impact of running and cycling on abdominal and visceral adipose tissues. One of the potential explanations could be the release of catecholamines. During high-intensity exercise (i.e. $>65\% \dot{V}O_{2max}$),

(c)



(d)

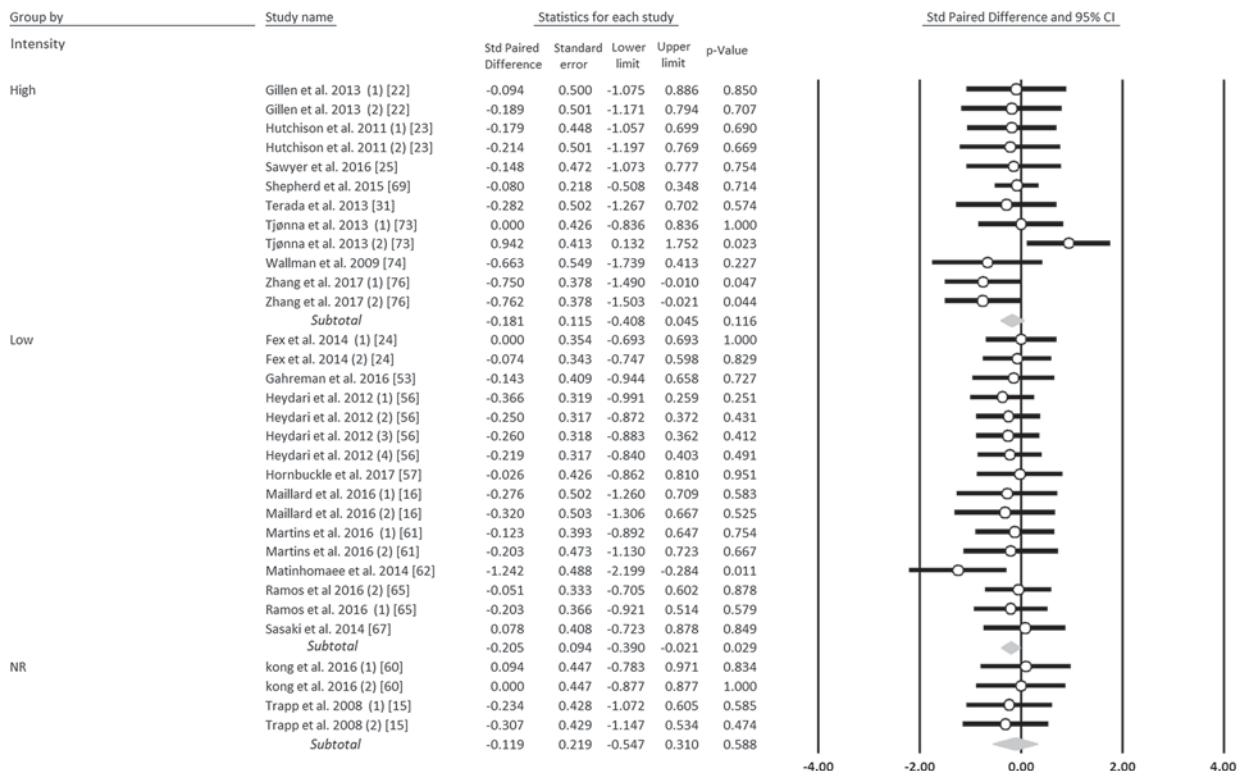


Fig. 3 continued

(e)

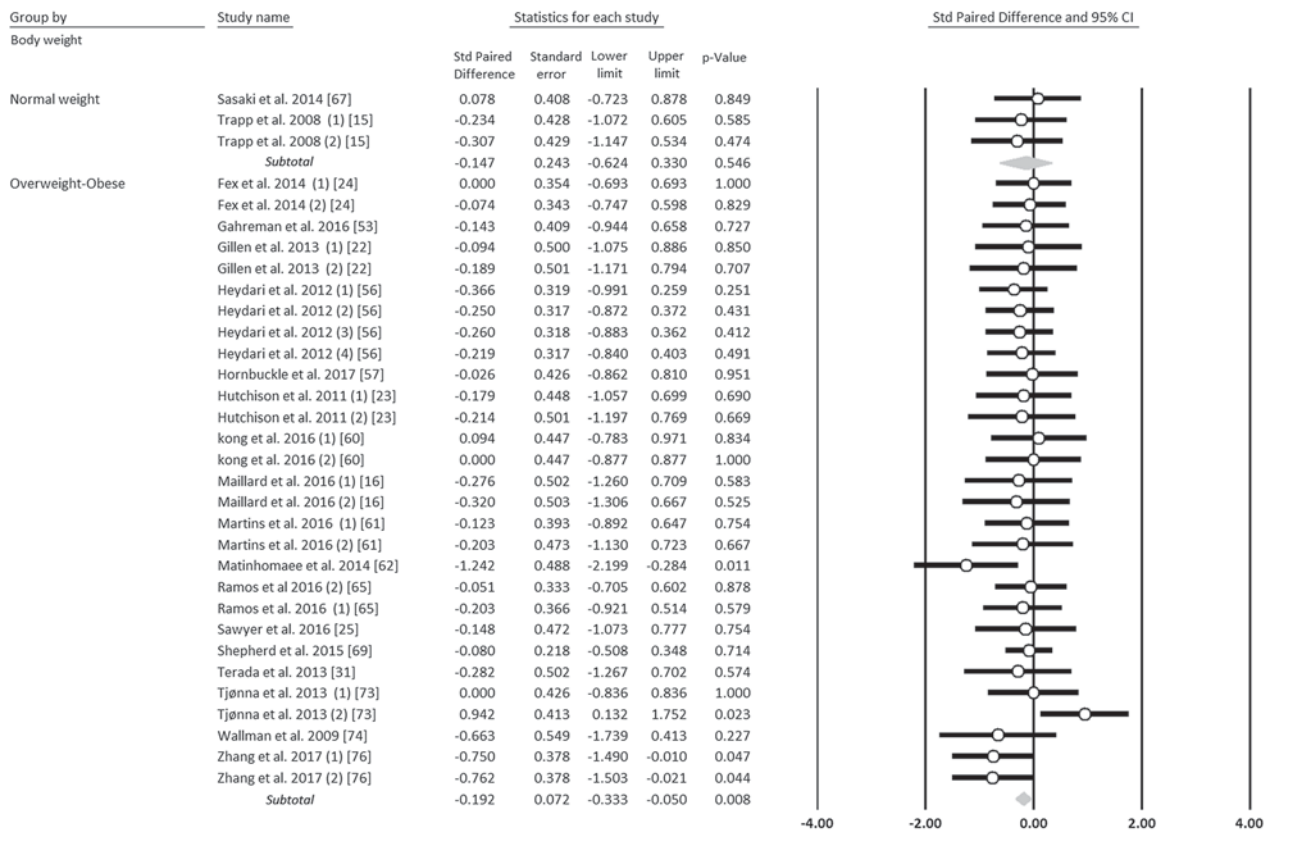


Fig. 3 continued

catecholamine responses significantly increase [35], which favors lipolysis via β -adrenergic receptors. The total abdominal area includes subcutaneous plus visceral adipose tissue. As the content of β -adrenergic receptors is higher in visceral than in subcutaneous adipose tissue [36], greater activation of the sympathetic nervous system (by noradrenaline release) during HIIT running could explain why there is a higher reliance on visceral adipose tissue than with a cycling protocol. However, little is known about the differences in catecholamine production during cycling and running performed at the same relative intensity, especially in overweight/obese subjects. Davies et al. [37] reported that catecholamine secretion was proportional to the muscle mass involved during exercise, a result at variance with the study of Nieman et al. [38], who observed no differences in catecholamine production between these two modalities. It is likely that the patients' habits (whether they go cycling and/or running, or even walking, regularly or not) could interfere with the results, as indicated by the great heterogeneity of our meta-analysis results regarding HIIT running-induced abdominal fat-mass loss. To conclude on this point, while our statistical

analysis of 35 studies indicates that running is more effective than cycling in reducing whole-body fat mass (in part owing to the greater muscle mass involved and the higher post-exercise oxygen consumption), the choice of 'the best' modality to achieve higher abdominal and/or visceral fat-mass loss remains to be elucidated and could be patient-dependent if related to catecholamine responses. The lack of information regarding cycling programs, such as cycle ergometer used, revolutions per minute, resistance, watts, and heart rate, and running protocols, such as speed, gradient treadmill, and heart rate, sometimes make it difficult to compare the two modalities or studies using the same modality. Future studies with fuller details of the method used are needed to establish the best HIIT protocol to achieve total and abdominal/visceral fat-mass loss.

Three other parameters were taken into account in this meta-analysis. The first was the potential influence of sex difference. No sex-related effect was found for HIIT-induced reduction in total and abdominal or visceral fat mass. A meta-analysis of Vissers et al. [39] showed that physical activity (resistance or endurance training) in general had a greater impact on total and visceral fat mass in males than

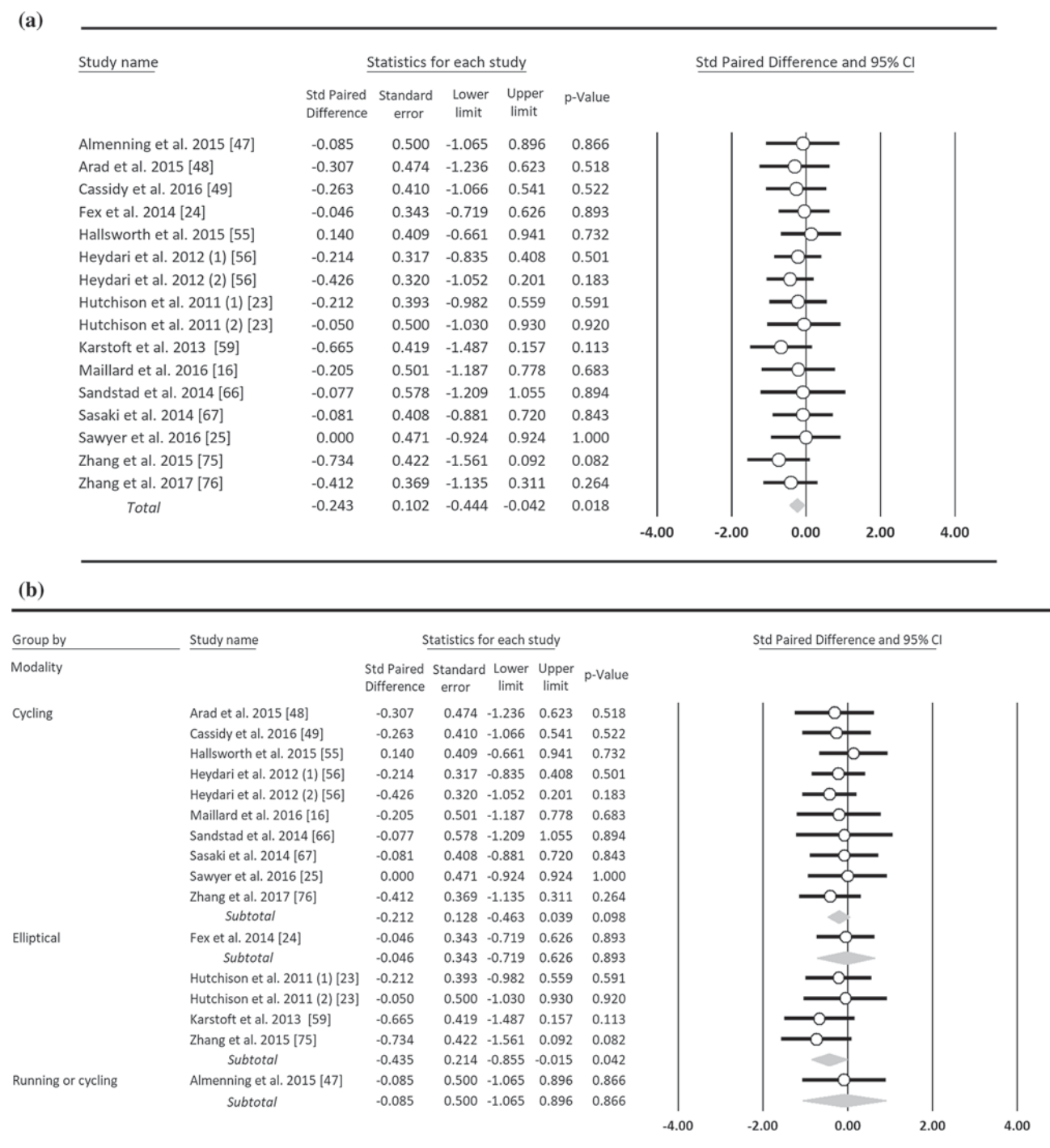


Fig. 4 Forest plot for the HIIT effect on (a) visceral fat mass, (b) with stratified analysis of exercise modalities, (c) methods of measuring body composition, (d) intensities, and (e) body weight. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols. *CI*

confidence interval, *CT* computed tomography, *DXA* dual-energy X-ray absorptiometry, *HIIT* high-intensity interval training, *MRI* magnetic resonance imaging, *NR* not reported, *Std* standardized

females according to their obesity phenotype: abdominal obesity in men and gynoid obesity in females, at least before menopause. However, only one study is available regarding sex differences in HIIT-induced fat-mass loss. The authors found a sex-related effect with a greater effect

observed in males, but body composition was determined by impedance, which is not the most reliable method [40]. Thus, additional studies are still necessary, particularly comparisons of pre- and postmenopausal women, to draw any meaningful conclusions.

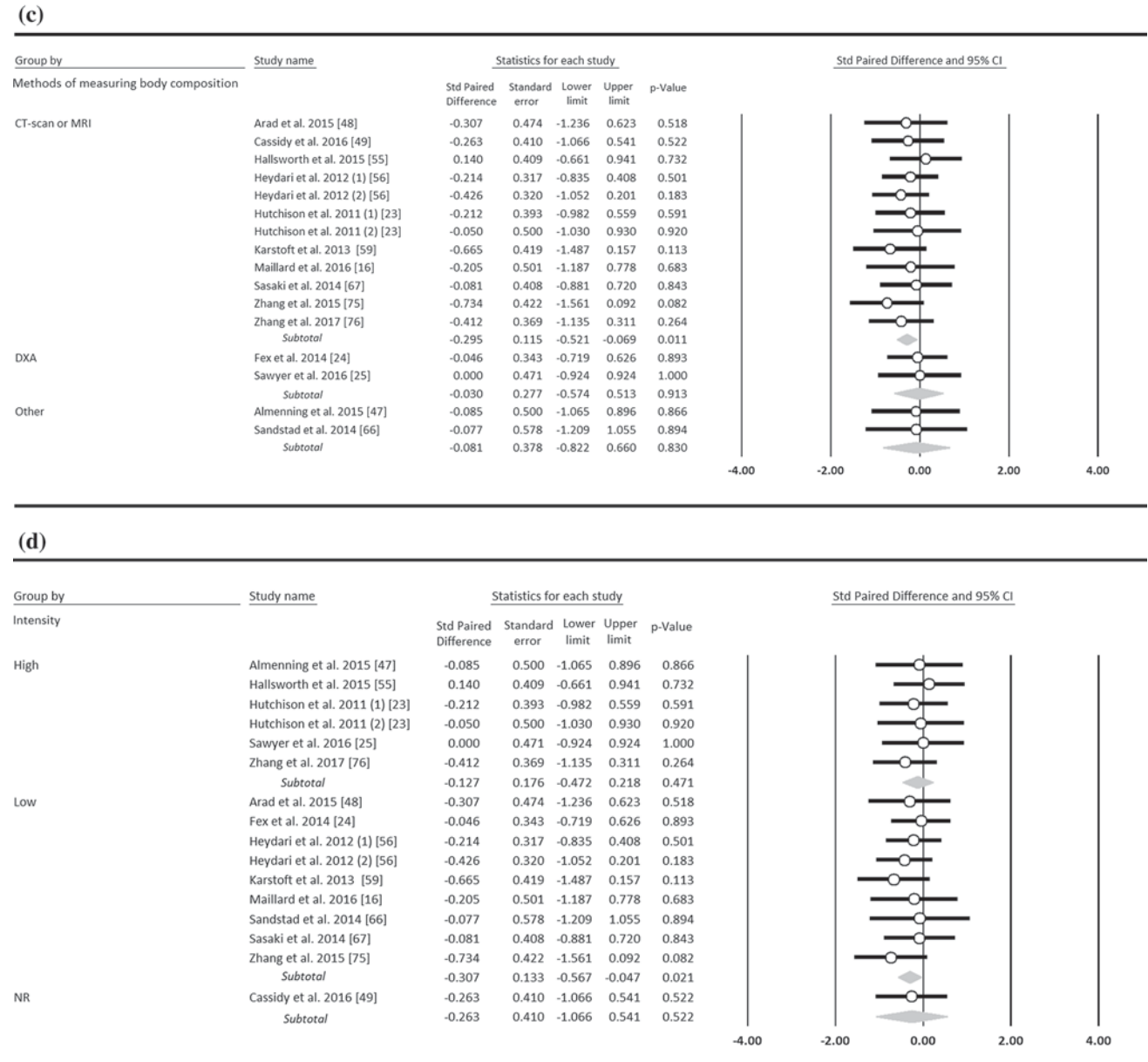


Fig. 4 continued

The second parameter was the method used to assess abdominal and visceral fat mass. Our analysis showed that only CT scan or MRI showed significant abdominal and/or visceral fat-mass changes after HIIT interventions. DXA scan is a ‘gold-standard’ instrument for measuring total fat mass, but, as shown by Shuster et al. [41], it is probably not the best method for assessing abdominal and, more particularly, visceral fat mass. Harmonizing the methods for measuring abdominal and visceral fat mass would help in the future to determine the real impact of HIIT on ‘central obesity’.

The last parameter related to the intensity of the HIIT protocol. An HIIT program comprises eight main

components: peak workload intensity, peak workload duration, recovery load, recovery duration, number of repetitions and series, and duration and intensity phases between series [42]. Endless combinations are possible and the isolated manipulation of each variable might differently affect the acute or chronic physiological responses [43]. Nevertheless, we arbitrarily chose to separate high and lower intensities using the threshold of 90% PHR. With this criterion, our meta-analysis showed that intensities above 90% PHR are more effective than lower intensities in reducing whole-body adiposity. In contrast, intensities below 90% PHR are more likely to decrease abdominal and visceral fat mass. In women aged 18–34 years, only a high

(e)

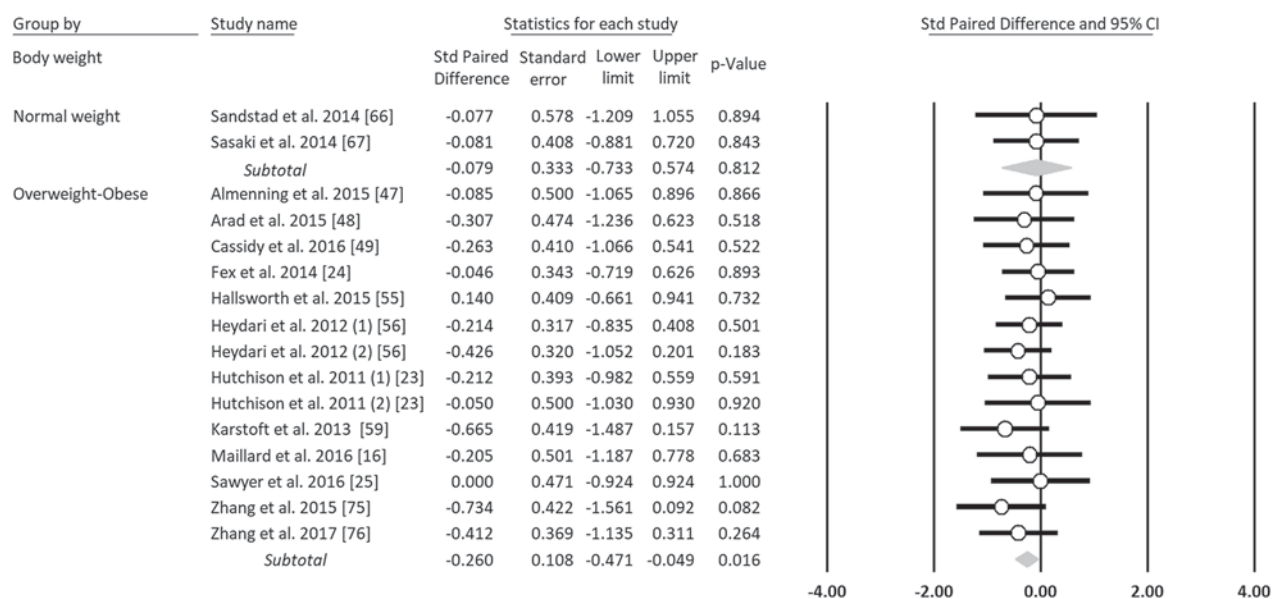


Fig. 4 continued

intensity (defined as heart rate around 160 and 165) has been shown to decrease total fat mass, and no effect was observed with lower intensities (heart rate around 150 and 160) [44]. The same result was found in untrained, middle-aged Korean females performing high- ($\geq 70\%$ $\dot{V}O_2\text{max}$) or low-intensity (50% $\dot{V}O_2\text{max}$) exercises over 14 weeks [45]. With regard to abdominal and visceral fat mass, results in our study might appear surprising. The meta-analysis of Vissers et al. [39] on the effect of exercise on visceral fat mass in overweight adults suggested an intensity threshold and advised moderate ($45\text{--}55\%$ $\dot{V}O_2\text{max}$) to vigorous ($\geq 70\%$ $\dot{V}O_2\text{max}$) exercise intensity to significantly decrease visceral fat mass [39]. In our meta-analysis, no moderate-intensity training was taken into account (i.e. low- to moderate-intensity interval training), and the lower intensities were still between 80 and 90% PHR owing to the threshold chosen. This may partly explain the results observed for abdominal/visceral fat mass since the duration of HIIT was generally longer when the intensity was lower. At these intensities, catecholamine release is still high and promotes lipolysis during exercise and fat oxidation during the recovery period.

5 Conclusions

Variations in the intensity and duration of the active and recovery periods, number of repetitions and series of the HIIT protocols combined with the lack of details regarding

the cycling or running HIIT protocol itself make it difficult to analyze HIIT-induced fat-mass loss. Nevertheless, the results obtained with a wide range of HIIT protocols involving normal-weight and overweight/obese subjects suggest that HIIT, especially running, is a time-efficient strategy to decrease fat-mass deposits, including abdominal and visceral fat mass. Large, multicenter, prospective studies are required to establish the optimal HIIT protocols to reduce fat mass according to subject characteristics, such as age, sex, body adiposity, and metabolic disorders.

Compliance with Ethical Standards

Funding No sources of funding were used to assist in the preparation of this article.

Conflict of interest Florie Maillard, Bruno Pereira and Nathalie Boisseau declare that they have no conflicts of interest relevant to the content of this review.

References

- Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *Lancet*. 2014;384:766–81.
- Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ. *Tech Rep Ser*. 2000;894:i–xii, 1–253.
- Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000;21:697–738.

4. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol Oxf*. 2012;205:194–208.
5. Després J-P, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444:881–7.
6. Johns DJ, Hartmann-Boyce J, Jebb SA, et al. Diet or exercise interventions vs combined behavioral weight management programs: a systematic review and meta-analysis of direct comparisons. *J Acad Nutr Diet*. 2014;114:1557–68.
7. Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41:459–71.
8. Lazzer S, Tringali G, Caccavale M, et al. Effects of high-intensity interval training on physical capacities and substrate oxidation rate in obese adolescents. *J Endocrinol Investig*. 2017;40:217–26.
9. Maurie J, Brun J, Jean E, et al. Comparaison de deux modalités différentes d'activité physique (SWEET et Lipoxmax) chez des diabétiques de type 2. *Sci Sports*. 2011;26:92–6.
10. Shaw K, Cennat H, O'Rourke P, et al. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;4:CD003817.
11. Wu T, Gao X, Chen M, et al. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obes Rev*. 2009;10:313–23.
12. Boutcher SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. *J Obes*. 2011;2011:868305.
13. Keating SE, Johnson NA, Mielke GI, et al. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. *Obes Rev*. 2017;18(8):943–64.
14. Wewege M, Van den berg R, Ward RE, et al. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on body composition in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2017;18:635–46.
15. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, et al. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes*. 2005;2008(32):684–91.
16. Maillard F, Rousset S, Pereira B, et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2016;42:433–41.
17. Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med*. 2014;48:1227–34.
18. Azuma K, Matsumoto H. Potential universal application of high-intensity interval training from athletes and sports lovers to patients. *Keio J Med*. 2017;66:19–24.
19. Granata C, Oliveira RSF, Little JP, et al. Training intensity modulates changes in PGC-1 α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *FASEB J*. 2016;30:959–70.
20. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*. 2017;595:2915–30.
21. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Associates; 1998.
22. Gillen JB, Percival ME, Ludzki A, et al. Interval training in the fed or fasted state improves body composition and muscle oxidative capacity in overweight women. *Obes Silver Spring*. 2013;21:2249–55.
23. Hutchison SK, Stepto NK, Harrison CL, et al. Effects of exercise on insulin resistance and body composition in overweight and obese women with and without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E48–56.
24. Fex A, Leduc-Gaudet J-P, Fillion M-E, et al. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre and type 2 diabetes patients a pilot study. *J Phys Act Health*. 2015;12:942–6.
25. Sawyer BJ, Tucker WJ, Bhammar DM, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on endothelial function and cardiometabolic risk markers in obese adults. *J Appl Physiol*. 1985;2016(121):279–88.
26. Kessler HS, Sisson SB, Short KR. The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sports Med*. 2012;42:489–509.
27. Gibala MJ, Jones AM. Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2013;76:51–60.
28. Ribeiro RL, de Oliveira Ítalo, Silva J, Dantas M, et al. High-intensity interval training applied in Brazilian Jiu-jitsu is more effective to improve athletic performance and body composition. *J Combat Sports Martial Arts*. 2015;6:1–5.
29. Drenowatz C, Hand GA, Sagner M, et al. The prospective association between different types of exercise and body composition. *Med Sci Sports Exerc*. 2015;47:2535–41.
30. Verheggen RJHM, Maessen MFH, Green DJ, et al. A systematic review and meta-analysis on the effects of exercise training versus hypocaloric diet: distinct effects on body weight and visceral adipose tissue. *Obes Rev*. 2016;17:664–90.
31. Terada T, Friesen A, Chahal BS, et al. Feasibility and preliminary efficacy of high intensity interval training in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;99:120–9.
32. Capostagno B, Bosch A. Higher fat oxidation in running than cycling at the same exercise intensities. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2010;20:44–55.
33. Knechtle B, Müller G, Willmann F, et al. Fat oxidation in men and women endurance athletes in running and cycling. *Int J Sports Med*. 2004;25:38–44.
34. Cunha FA, Midgley AW, McNaughton LR, et al. Effect of continuous and intermittent bouts of isocaloric cycling and running exercise on excess postexercise oxygen consumption. *J Sci Med Sport*. 2016;19:187–92.
35. Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, et al. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Med*. 2008;38:401–23.
36. Rebuffé-Scrive M, Andersson B, Olbe L, et al. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism*. 1989;38:453–8.
37. Davies CT, Few J, Foster KG, et al. Plasma catecholamine concentration during dynamic exercise involving different muscle groups. *Eur J Appl Physiol*. 1974;32:195–206.
38. Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL, Fagoaga OR, et al. Effects of mode and carbohydrate on the granulocyte and monocyte response to intensive, prolonged exercise. *J Appl Physiol*. 1985;1998(84):1252–9.
39. Vissers D, Hens W, Taeymans J, et al. The effect of exercise on visceral adipose tissue in overweight adults: a systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2013;8:e56415.
40. Morikawa M, Okazaki K, Masuki S, et al. Physical fitness and indices of lifestyle-related diseases before and after interval walking training in middle-aged and older males and females. *Br J Sports Med*. 2011;45:216–24.
41. Shuster A, Patlas M, Pinthus JH, et al. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol*. 2012;85:1–10.
42. Buchheit M, Laursen PB. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle. Part II: anaerobic energy, neuromuscular load and practical applications. *Sports Med*. 2013;43:927–54.

43. Gosselin LE, Kozlowski KF, DeVinney-Boymel L, et al. Metabolic response of different high-intensity aerobic interval exercise protocols. *J Strength Cond Res.* 2012;26:2866–71.
44. Bryner RW, Toffle RC, Ullrich IH, et al. The effects of exercise intensity on body composition, weight loss, and dietary composition in women. *J Am Coll Nutr.* 1997;16:68–73.
45. Lee M-G, Park K-S, Kim D-U, et al. Effects of high-intensity exercise training on body composition, abdominal fat loss, and cardiorespiratory fitness in middle-aged Korean females. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012;37:1019–27.
46. Ahmadizad S, Avansar AS, Ebrahim K, et al. The effects of short-term high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on plasma levels of nesfatin-1 and inflammatory markers. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015;21:165–73.
47. Alménning I, Rieber-Mohn A, Lundgren KM, et al. Effects of high intensity interval training and strength training on metabolic, cardiovascular and hormonal outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *PloS One.* 2015;10:e0138793.
48. Arad AD, DiMenna FJ, Thomas N, et al. High-intensity interval training without weight loss improves exercise but not basal or insulin-induced metabolism in overweight/obese African American women. *J Appl Physiol.* 1985;2015(119):352–62.
49. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2016;59:56–66.
50. Coquart JBJ, Lemaire C, Dubart A-E, et al. Intermittent versus continuous exercise: effects of perceptually lower exercise in obese women. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:1546–53.
51. Eimarieskandari R, Zilaeibouri S, Zilaeibouri M, et al. Comparing two modes of exercise training with different intensity on body composition in obese young girls. *Sci Mov Health.* 2012;12:473–8.
52. Fisher G, Brown AW, Bohan Brown MM, et al. High intensity interval vs moderate intensity-training for improving cardiometabolic health in overweight or obese males: a randomized controlled trial. *PloS One.* 2015;10:e0138853.
53. Gahreman D, Heydari M, Boutcher Y, et al. The effect of green tea ingestion and interval sprinting exercise on the body composition of overweight males: a randomized trial. *Nutrients.* 2016;8:510.
54. Guadalupe-Grau A, Fernández-Elías VE, Ortega JF, et al. Effects of 6-month aerobic interval training on skeletal muscle metabolism in middle-aged metabolic syndrome patients. *Scand J Med Sci Sports.* 2017;. <https://doi.org/10.1111/sms.12881>.
55. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clin Sci Lond.* 2015;129:1097–105.
56. Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effect of high-intensity intermittent exercise on body composition of overweight young males. *J Obes.* 2012;2012:480467.
57. Hornbuckle LM, McKenzie MJ, Whitt-Glover MC. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic risk in overweight and obese African-American women: a pilot study. *Ethn Health.* 2017;1:1–15.
58. Hwang C-L, Yoo J-K, Kim H-K, et al. Novel all-extremity high-intensity interval training improves aerobic fitness, cardiac function and insulin resistance in healthy older adults. *Exp Gerontol.* 2016;82:112–9.
59. Karstoft K, Winding K, Knudsen SH, et al. The effects of free-living interval-walking training on glycemic control, body composition, and physical fitness in type 2 diabetic patients: a randomized, controlled trial. *Diabetes Care.* 2013;36:228–36.
60. Kong Z, Sun S, Liu M, et al. Short-term high-intensity interval training on body composition and blood glucose in overweight and obese young women. *J Diabetes Res.* 2016;2016:4073618.
61. Martins C, Kazakova I, Ludviksen M, et al. High-intensity interval training and isocaloric moderate-intensity continuous training result in similar improvements in body composition and fitness in obese individuals. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2016;26:197–204.
62. Matinhomae H, Banaei J, Azarbayjani MA, et al. Effects of 12-week high-intensity interval training on plasma visfatin concentration and insulin resistance in overweight men. *J Exerc Sci Fit.* 2014;12:20–5.
63. Nikseresh M, Agha-Alinejad H, Azarbayjani MA, et al. Effects of nonlinear resistance and aerobic interval training on cytokines and insulin resistance in sedentary men who are obese. *J Strength Cond Res.* 2014;28:2560–8.
64. Panissa VLG, Julio UF, França V, et al. Sex-related differences in self-paced all out high-intensity intermittent cycling: mechanical and physiological responses. *J Sports Sci Med.* 2016;15:372–8.
65. Ramos JS, Dalleck LC, Borrani F, et al. The effect of different volumes of high-intensity interval training on proinsulin in participants with the metabolic syndrome: a randomised trial. *Diabetologia.* 2016;59:2308–20.
66. Sandstad J, Stensvold D, Hoff M, et al. The effects of high intensity interval training in women with rheumatic disease: a pilot study. *Eur J Appl Physiol.* 2015;115:2081–9.
67. Sasaki H, Morishima T, Hasegawa Y, et al. 4 weeks of high-intensity interval training does not alter the exercise-induced growth hormone response in sedentary men. *SpringerPlus.* 2014;3:336.
68. Schjerve IE, Tyldum GA, Tjønnå AE, et al. Both aerobic endurance and strength training programmes improve cardiovascular health in obese adults. *Clin Sci (Lond).* 1979;2008(115):283–93.
69. Shepherd SO, Wilson OJ, Taylor AS, et al. Low-volume high-intensity interval training in a gym setting improves cardio-metabolic and psychological health. *PloS One.* 2015;10:e0139056.
70. Smith-Ryan AE, Melvin MN, Wingfield HL. High-intensity interval training: modulating interval duration in overweight/obese men. *Phys Sports Med.* 2015;43:107–13.
71. Steckling FM, Farinha JB, Santos DLD, et al. High intensity interval training reduces the levels of serum inflammatory cytokine on women with metabolic syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off.* 2016;124:597–601.
72. Stensvold D, Tjønnå AE, Skaug E-A, et al. Strength training versus aerobic interval training to modify risk factors of metabolic syndrome. *J Appl Physiol.* 1985;2010(108):804–10.
73. Tjønnå AE, Leinan IM, Bartnes AT, et al. Low- and high-volume of intensive endurance training significantly improves maximal oxygen uptake after 10-weeks of training in healthy men. *PloS One.* 2013;8:e65382.
74. Wallman K, Plant LA, Rakimov B, et al. The effects of two modes of exercise on aerobic fitness and fat mass in an overweight population. *Sports Med.* 2009;17:156–70.
75. Zhang H, Tong TK, Qiu W, et al. Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: a randomized controlled trial. *Kinesiology.* 2015;47:57–66.
76. Zhang H, Tong TK, Qiu W, et al. Comparable effects of high-intensity interval training and prolonged continuous exercise training on abdominal visceral fat reduction in obese young women. *J Diabetes Res.* 2017;2017:5071740.
77. Ziemann E, Grzywacz T, Łuszczczyk M, et al. Aerobic and anaerobic changes with high-intensity interval training in active college-aged men. *J Strength Cond Res.* 2011;25:1104–12.

II Axe d'étude n°2 : Etudes fondamentales mécanistiques : Interactions entre le tissu adipeux et le microbiote intestinal dans deux modèles d'inflammation chronique

Démontrer l'effet préventif et/ou l'impact de différentes modalités d'exercice sur l'interaction « microbiote - tissu adipeux » dans un contexte de pathologies inflammatoires chroniques sur des modèles murins.

II.1 Méthodologie

Toutes les procédures animales ont été approuvées par le comité d'éthique local (CE2A-02, Auvergne, France).

II.1.1 Les modèles murins d'obésité et d'inflammation intestinale

II.1.1.1 Le rat Zucker (*fa/fa*)

Le rat Zucker (*fa/fa*) est le modèle d'obésité génétique le plus connu. Ces animaux développent une obésité vers l'âge de 4 semaines via une mutation autosomique doublement récessive pour le gène *fa* du récepteur à la leptine. La leptine étant une hormone régulant les réserves de graisses, il en résulte une prise rapide de masse grasse (hypertrophie/hyperplasie) par hyperphagie. Cette altération se traduit par une hyper-insulinémie, hyper-lipidémie ainsi qu'une résistance à l'insuline. Toutefois, ces animaux ne sont pas diabétiques contrairement aux rats Zucker Diabetic Fatty (ZDF). Les rats Zucker ont été également caractérisés comme étant de bons modèles afin d'étudier des programmes d'activité physique dans un but thérapeutique (Metz et al., 2005).

II.1.1.2 La souris CEABAC 10

Le modèle de souris utilisé présente une surexpression du récepteur humain CEACAM6 au niveau intestinal permettant l'adhésion de la souche AIEC LF82. Il en résulte le développement d'une inflammation intestinale similaire à celle observée dans la maladie de Crohn.

II.1.2 Design de l'étude n°1 : effet de l'exercice en prévention secondaire dans un contexte d'obésité

Soixante-douze rats Zucker mâles âgés de 8 semaines ont été achetés chez Charles River. Après familiarisation à l'animalerie (Inra, Theix), les animaux ont bénéficié d'une semaine d'habituation à la course sur tapis permettant ainsi de sélectionner les animaux coureurs. A la fin de la semaine, les rats ont été randomisés en 3 groupes homogènes (n=12) en fonction du poids, de la masse grasse et de la glycémie à jeun, avant de réaliser un entraînement de 10 semaines, soit de type MICT ou HIIT, ou de rester sédentaires (Figure 22). Les animaux étaient hébergés en cages individuelles dans une pièce à température contrôlée (21°C) sous un cycle inversé.

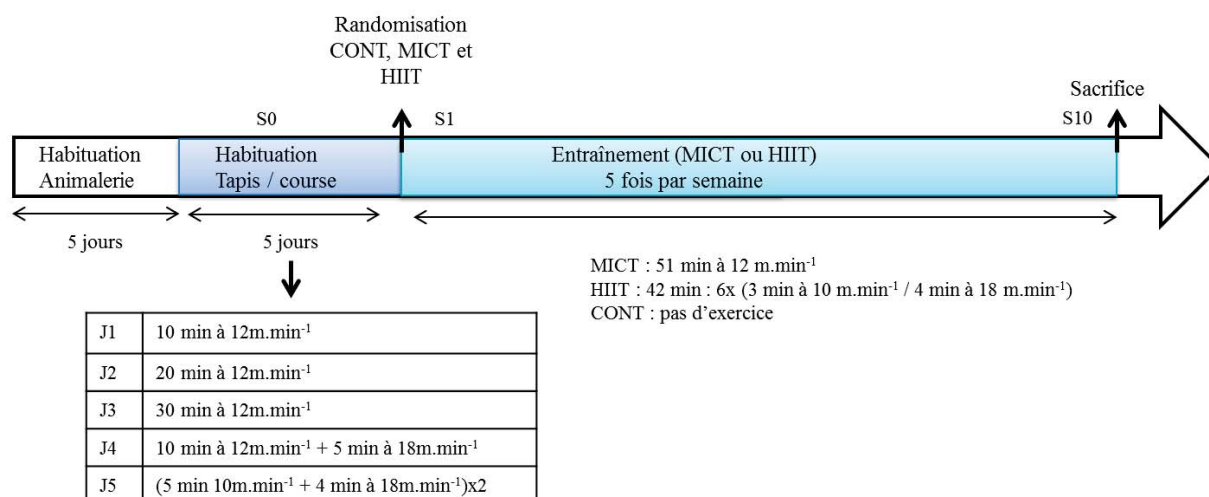


Figure 22 : Schéma du protocole de l'étude n°1 dans un contexte d'obésité.

II.1.3 Design de l'étude n°2 : effet de l'exercice en prévention primaire dans un contexte d'inflammation intestinale (maladie de Crohn)

Les animaux proviennent de l'animalerie exempte d'organisme pathogène (EOPS) de la faculté de médecine à Clermont-Ferrand. Le modèle de souris CEABAC10 est obtenu après reproduction entre un mâle CEABAC10 et 2 ou 3 femelles sauvages (souris blanches FVB/N). A l'âge de 4 ou 5 semaines, les animaux sont sevrés et génotypés permettant ainsi de sélectionner uniquement les souris mâles porteuses du transgène CEABAC10. Les souris ont été réparties en deux groupes, activité physique (ROUE ; n=24) et contrôle (CONT ; n=11). Ces groupes sont homogènes sur le poids, la masse grasse et la glycémie à jeun. Le nombre d'animaux est volontairement plus important dans le groupe ROUE afin de pouvoir analyser en sous-groupe l'influence du volume et de l'intensité de pratique (Figure 23). Les animaux

étaient hébergés en cages individuelles dans une pièce à température contrôlée (21°C) sous un cycle inversé durant les 12 premières semaines du protocole.

Des pré-tests ont confirmé les données de la littérature, à savoir qu'une activité physique volontaire sur roue pouvait augmenter la prise alimentaire (Samaan et al., 2014). Pour ne pas biaiser nos résultats, un « pair-feeding » a été réalisé tous les deux jours par rapport au groupe contrôle (le groupe mangeant spontanément le moins).

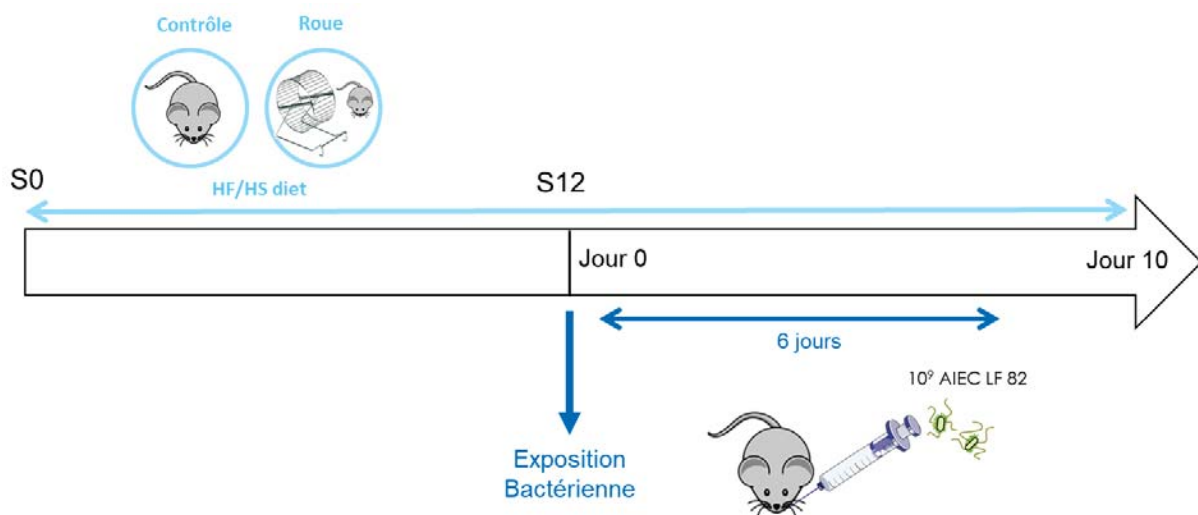


Figure 23 : Schéma du protocole de l'étude n°2 dans un contexte d'inflammation intestinale (maladie de Crohn).

Exposition bactérienne :

Après 12 semaines de régime riche en graisses et en sucres HF/HS (« high fat/high sugar »), les souris CEABAC10 ont été transférées dans des isolateurs stériles (condition SPF) pour être infectées avec la souche AIEC LF82, isolée de patients atteints de la MC (Agus et al., 2016; Martinez-Medina et al., 2014). Les souris ont été gavées 6 jours consécutifs avec 200µl de PBS contenant 10^9 bactéries. Pendant cette période, le poids a été mesuré et les selles ont été collectées quotidiennement. Le 10^{ème} jour, les souris ont été sacrifiées.

II.1.4 Alimentation

Les rats de l'étude obésité ont été nourris *ad libitum* via un régime standard composé de la manière suivante (Figure 24):

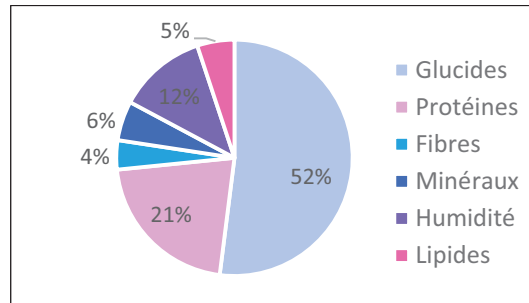


Figure 24 : Composition du régime standard A03 provenant de chez Safe.

Les souris de l'étude maladie de Crohn ont été nourries via un régime « high fat / high sugar - HF/HS» composé de la manière suivante (Figure 25) :

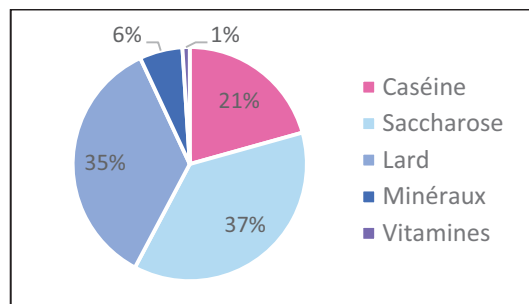


Figure 25 : Composition du régime « high fat / high sugar- HF/HS» 230 provenant de chez Safe.

II.1.5 Activité physique

II.1.5.1 Etude prévention secondaire : obésité

Les programmes d'entraînement ont été adaptés à partir de ceux proposés par Haram et al. (2009); Kapravelou et al. (2015); Metz et al. (2005). Ils ont initialement été conçus pour réaliser une même distance totale entre les deux groupes (612 mètres parcourus par séance). L'entraînement a été effectué sur un tapis roulant motorisé non incliné (pente à 0 °), 5 jours par semaine (du lundi au vendredi) pendant 10 semaines. Les deux groupes commençaient avec un échauffement pendant 5 min à 10 m.min⁻¹. Dans le groupe HIIT, les rats ont réalisé pendant 42 minutes 6 séries en alternant 3 min à 10 m.min⁻¹ suivi de 4 min à 18 m.min⁻¹, tandis que dans le groupe MICT, les animaux ont couru 51 min à 12 m.min⁻¹. Durant les séances, si

besoin, les animaux ont été stimulés manuellement au niveau de la queue. Afin d'éviter les effets aigus de l'exercice sur le métabolisme, l'entraînement a été arrêté 2 jours avant le sacrifice. Les rats non actifs ont été placés dans la salle d'entraînement pendant les séances afin de les exposer au même environnement que les groupes entraînés.

II.1.5.2 Etude prévention primaire : maladie de Crohn

Le système de mesure est présenté dans la figure 26.

Les roues équipées d'un aimant et d'un capteur étaient reliées aux entrées numériques (Digital input) d'une carte microcontrôleur (PIC18 4550 MICROCHIP) programmée spécifiquement pour cette utilisation et permettant de détecter chaque passage de l'aimant devant le capteur. Les informations étaient renvoyées à un ordinateur pour le traitement et le stockage via un programme spécifique écrit en langage G (LABVIEW National Instrument).

L'activité physique spontanée des souris était enregistrée en continue et le système vérifié tous les deux jours. L'analyse des données via le logiciel labChart (labChart version 7) a permis d'obtenir les distances parcourues (km) ainsi que les vitesses ($\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$) pour chacune des souris.

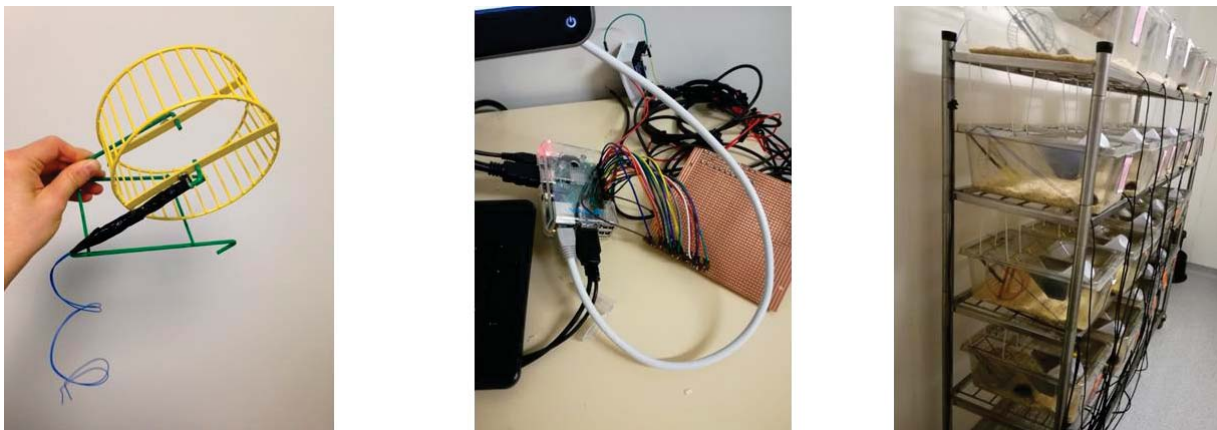


Figure 26 : Système de mesure de l'activité spontanée des animaux.

II.1.6 Mesure du poids et de la composition corporelle

Dans les deux études, les animaux ont été pesés chaque semaine à l'aide d'une balance de pesée pour rongeur. La répartition masse grasse et de la masse maigre des animaux a été déterminée par EchoMRI (Echo Medical Systems, Houston, TX, USA) aux semaines 0, 2, 5, 8 et 10 (étude n°1) et aux semaines 0, 6 et 12 (étude n°2). Les différents tissus adipeux sous cutané et épидидymal (étude n°1) puis mésentérique (étude n°2) ont été pesés après sacrifice.

II.1.7 Test de tolérance au glucose (OGTT) et profil glucidique

Après 6h de mise à jeun (mise à jeun à 8h le matin, accès à l'eau autorisé), les animaux ont été gavés oralement avec une solution de D-glucose (Sigma Aldrich) dilué dans de l'eau administrée à 4g/kg de masse maigre (étude n°1) et 1,1g/kg de masse maigre (étude n°2). Un prélèvement de sang à la queue à 0, 15, 30, 60, 90 et 120 minutes après injection a permis de déterminer la glycémie via un glucomètre (Accu-chek Performa, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). A partir des glycémies obtenues au cours du temps, l'air sous la courbe (AUC) a été calculée par la méthode trapézoïdale après soustraction de la concentration initiale.

Une partie du sang prélevé avant l'OGTT (temps 0min) a permis de mesurer la glycémie à jeun via un glucomètre, le sang restant a été centrifugé à 2000g pendant 10 min pour obtenir le plasma. Le plasma récolté a ensuite été congelé à -80°C jusqu'à utilisation. L'insuline plasmatique à jeun a été déterminée par test ELISA (ALPCO, salem, NH, USA).

L'HOMA-IR, reflétant la résistance à l'insuline a ensuite été calculé de la façon suivante (Matthews et al., 1985):

$$\frac{\text{Insuline (mU.L}^{-1}) * \text{glycémie (mmol.L}^{-1})}{22,5}$$

II.1.8 Calorimétrie indirecte

Cette mesure ne concerne que l'étude n°1.

A la semaine 10, les rats ont été placés dans des cages métaboliques issues du système TSE PhenoMaster / LabMaster (Bad Homburg, Allemagne) pendant 48 heures (24 h de familiarisation et 24 h de mesures ; 12h à la lumière et 12h dans l'obscurité) avec un accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau. Des mesures métaboliques (consommation d'O₂ et rejet de

CO₂, prise alimentaire, activité spontanée et la dépense énergétique) ont été enregistrées. Le quotient respiratoire (QR) a été déterminé par le rapport du CO₂ produit (VCO₂) sur l'O₂ consommé (VO₂). La température ambiante était maintenue à 22°C. Ces cages sont équipées de plusieurs capteurs et sont utilisées pour l'analyse du métabolisme chez le rat et la souris. Concernant l'activité physique spontanée, le cadre de la cage enregistre chaque mouvement de l'animal dans les trois dimensions. Des faisceaux lumineux sont placés dans le plan X, Y et Z. Les interruptions du faisceau sont enregistrées et permettent de renseigner sur l'activité de l'animal. La dépense énergétique a été calculée en utilisant l'équation de Weir à partir de la mesure des échanges gazeux (Weir, 1949). La prise alimentaire est mesurée à l'aide d'un capteur de pesée qui enregistre la force exercée par le poids des aliments. Chaque cage possédait un volume de 4,9 l d'air et le débit de renouvellement a été réglé à 0,4 l.min⁻¹. L'analyseur d'O₂ et de CO₂ ainsi que les capteurs de nourriture et de boissons ont été étalonnés avant chaque période de mesure.

II.1.9 Sacrifice des animaux

Après 10 semaines, les rats du modèle obésité (étude n°1) ont été sacrifiés par décapitation. L'intestin (colon), deux échantillons de selles, et le tissu adipeux (sous-cutané et épидидymal) ont été prélevés. En ce qui concerne les souris du modèle de la MC (étude n°2), après décapitation à la fin de la période d'exposition, l'intestin (colon), deux échantillons de selles, et le tissu adipeux (sous-cutané et mésentérique) ont été prélevés.

Pour les deux études, une partie des aliquots a été congelée immédiatement dans l'azote liquide et l'autre partie des prélèvements a été utilisée pour l'histologie et les incubations.

II.1.10 Dosages plasmatiques

II.1.10.1 Profil lipidique

Cette mesure ne concerne que l'étude n°1.

Le sang a été recueilli *post mortem* dans des tubes héparinés et centrifugé pendant 10 minutes à 2000 g pour obtenir du plasma. Ensuite, tous les échantillons ont été congelés à -80°C jusqu'à l'analyse. Le profil lipidique a quant à lui été déterminé par des lipoprotéines et des lipides quantifiés via des kits commerciaux: triglycérides plasmatiques (Max Discovery,

Austin, USA), LDL (Crystal Chem, Downers Grove, USA), HDL (Crystal Chem, Downers Grove, USA) et cholestérol (Max Discovery, Austin, États-Unis), AGL (Wako Chemicals, Richmond, USA). Chaque mesure a été dupliquée.

II.1.10.2 Inflammation systémique

Etude n°1 : modèle d'obésité

Dans ce modèle, l'inflammation intestinale a été déterminée via la quantification de la myéloperoxydase (MPO) (R&D systems) et du « lipopolysaccharide binding protein » (LBP) (Hycult Biotech, Netherland) au niveau plasmatique.

Etude n°2 : modèle d'inflammation intestinale (maladie de Crohn)

Dans ce modèle, l'inflammation systémique a été évaluée par la quantification du lipopolysaccharide (LPS) plasmatique actif. Pour réaliser ce dosage, le plasma a été recueilli au sacrifice comme décrit précédemment. Le LPS a été quantifié en utilisant des cellules HEK-Blue-mTLR4 (Invivogen, San Diego, CA). Dans une plaque à 96 puits, 180µl d'une suspension cellulaire contenant $1,4 \times 10^4$ cellules HEK-Blue-mTLR4 par ml repris dans un milieu de détection HEK-Blue (Invivogen, San Diego, CA) ont été ajoutés à 20 µl de plasma de souris dilué (1/10). Le LPS (Sigma, St. Louis, MO) a été utilisé comme contrôle positif afin de réaliser une gamme. La plaque a été incubée pendant 24 heures à 37°C dans 5% de CO₂ puis l'activité de la phosphatase alcaline a été mesurée à 620 nm.

II.1.11 Sécrétion des cytokines et des acides gras libres par le tissu adipeux

II.1.11.1 Réalisation des incubations de tissu adipeux :

Lors du sacrifice, un prélèvement du tissu adipeux sous-cutané, épидидymal et mésentérique a été pesé et disposé dans 1ml de milieu (étude n°1) ou 500µl (étude n°2) « Dulbecco's Modified Eagle Medium » (DMEM) contenant des antibiotiques (50mg/ml de gentamicine) ou dans une solution KBEB'S-Ringer's (pH=7,4). Après 24h d'incubation à 37°C, 5 % de CO₂, le surnageant a été prélevé, centrifugé (5 min à 2000g) et congelé à -80°C.

II.1.11.2 Quantification des cytokines et des acides gras libres secrétés par le tissu adipeux

Les teneurs de cytokines (KC et IL-6) secrétées par les tissus dans le milieu DMEM (surnagent) ont ensuite été déterminées à l'aide de kits Elisa (R&D systems). Les différentes dilutions sont présentées dans les tableaux 10 et 11. Hormis l'anticorps de capture, toutes les dilutions sont réalisées dans du « reagent diluent » (BSA 1% dans du PBS).

L'anticorps de capture (50µl) est déposé dans une plaque 96 puits et est incubé une nuit à température ambiante. Ensuite, 3 lavages au « wash buffer » (Tween 20 0.05% dans du PBS) sont réalisés avant d'ajouter 300µl de reagent diluent pendant 1 h. Après l'incubation, une gamme est réalisée à l'aide du standard fourni par le kit approprié puis 50 µl d'échantillons sont déposés. A nouveau, 3 lavages sont réalisés après 2h d'incubation à température ambiante. La peroxydase de raifort (HRP) est diluée au 40^{ième} ou 200^{ième} (selon le kit) dans du « Reagent diluent » et un volume de 50 µL est déposé dans les puits. La plaque est incubée pendant 20 minutes sous en papier aluminium à température ambiante. Pendant ce temps, l'HRP se fixe à la biotine, une co-enzyme liée à l'anticorps de détection. Suite aux 3 lavages, 100 µL/puits du substrat de l'enzyme est déposé (Acétate, 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB), et H₂O₂). Ce substrat va permettre le développement d'une réaction colorée qui aura lieu durant les 20 minutes d'incubation, à l'abri de la lumière. La réaction est arrêtée par l'ajout de 50 µL/puits d'une solution STOP d'acide sulfurique (H₂SO₄) qui détruit l'activité enzymatique. La mesure de la densité optique se fait grâce à un spectrophotomètre à 450 nm. La quantité du signal émis est proportionnelle à la quantité de protéines d'intérêt. Grâce à la gamme étalon, une équation permet d'établir une droite qui servira à calculer la concentration de protéines dans les échantillons.

Tableau 10 : Tableau des dilutions échantillons de tissus adipeux pour la quantification des protéines par ELISA.

	<i>RAT</i>		<i>SOURIS</i>	
	TA sous-cutané	TA épидидymal	TA sous-cutané	TA mésentérique
<i>IL-6</i>	PUR	PUR	1/60	1/70
<i>KC</i>	1/30	1/40	1/160	1/240

Tableau 11 : Tableau des dilutions des anticorps utilisés pour la quantification des protéines par ELISA.

		<i>dilutions</i>
<i>IL-6</i>	Capture	1/60
	Détection	1/60
	Standard	1/120
<i>KC</i>	Capture	1/120
	Détection	1/60
	Standard	1/210

Pour l'étude n°1, la sécrétion d'AGL par le tissu adipeux a été quantifiée dans un milieu d'incubation KBEBBS-Ringer's solution (pH=7.4), à l'aide d'un kit commercial (Wako Chemicals, Richmond, USA) selon les instructions du fabricant.

II.1.12 Quantification des protéines par Western blot

II.1.12.1 Extraction des protéines

Le tissu adipeux (sous-cutané et viscéral) et le colon ont été broyés à l'aide d'un ultraturax dans 500 µl un tampon d'extraction (Tris 25mM, EDTA 1mM, EGTA 5mM, MgCl₂ 0.1mM, Glycérol 10%, NaCl 150mM, Nonidet P-40 1%, SDS 1%) supplémenté extemporanément avec un cocktail inhibiteur de protéase (40µL/mL), Sodium Orthovanadate (1mM), PMSF (1mM) et N-Ethylmaleimide (5nM). Ensuite, les homogénats ont été centrifugés 5 minutes à 10 000g à 4°C. Une petite portion (20µl) a été utilisé pour le dosage de protéines et le reste a été congelé à -80°C jusqu'à utilisation.

II.1.12.2 Dosage des protéines et préparation des échantillons

Le dosage des protéines a été réalisé à partir de la gamme étalon suivante Solution Mère BSA 1mg/mL) :

<i>[BSA]µg/mL</i>	0	5	10	15	20	30	40
<i>Vsolution mère BSA µL</i>	0	4	8	12	16	24	32
<i>Qsp 800µL H2O milliQ</i>	800	796	792	788	784	776	768

Les échantillons sont dilués au 1/200 puis 200µl du réactif Bio-Rad (DC protein assay, Bio-Rad, USA), est ajouté avant de lire l'absorbance à 595 nm. Après avoir ajusté la quantité de protéines à 25µg pour tous les échantillons, un tampon de charge LB 4X était ajouté (1 volume de LB4X pour 3 volumes de protéines).

II.1.12.3 Western blot

Un gel d'acrylamide à 12% a été préparé à partir du kit TGX Stain-Free™ FastCast™ Acrylamide kit, 12% (Bio-Rad) complété d'Ammonium Persulfate (APS) et de TEMED. Pendant que le gel polymérise, les échantillons préalablement préparés sont vortexés et centrifugés rapidement avant d'être chauffés pendant 5 minutes à 95°C. La migration des échantillons déposés (20µl) est effectuée dans un tampon (Tris base 25mM, glycine 0.2 M, SDS 20% 0.1%, Qsp 1L H₂O) à 130 volts. Ensuite, les protéines sont transférées sur une membrane de nitrocellulose. Ce transfert liquide est réalisé dans un tampon (Tris base, glycine, Méthanol, Qsp 1L H₂O) sous agitation à 4°C dans la glace pendant 2 heures à 200mA. Afin de vérifier la présence de protéines, la membrane est recouverte de rouge ponceau, puis rincée à l'eau distillée (des bandes colorées en rouge doivent apparaître). Les sites aspécifiques sont ensuite bloqués avec de la BSA 5% sous agitation pendant 1 heure. On ajoute l'anticorps primaire dirigé contre la protéine cible (Tableau 12) sur une nuit à 4°C sous agitation. Après avoir lavé la membrane (3x10 minutes) au TBST 1X pH 8 (TBS 10X : Tris base, NaCl, Qsp 1L H₂O – 100 mL TBS 10X, Tween 20 0.05%, Qsp 1L H₂O) sous agitation à température ambiante, l'anticorps secondaire (anti-rabbit HRP) dilué au 1/5000 dans du TBST est ajouté pendant 1h sous agitation à température ambiante. Un dernier lavage est effectué (3x5 minutes) avant d'ajouter les réactifs de révélation Clarity Max™ Western ECL Substrate (Bio-Rad) permettant d'enregistrer le signal via un système d'imagerie Chemidoc Bio-Rad. Les signaux ont été quantifiés à l'aide du logiciel Image J et normalisés via un gène de ménage (GAPDH) ou via la méthode par la normalisation des protéines totale.

Tableau 12 : Dilution des anticorps utilisés pour la quantification des protéines par western-blot.

	RAT (étude n°1)			SOURIS (étude n°2)		
	TA sous-cutané	TA épидидymal	Colon	TA sous-cutané	TA mésentérique	Colon
Phospho-LHS (Cell Signaling Technology)	1/500	1/500	x	x	x	x
Occludine (33-1500, Invitrogen)	x	x	1/500	x	x	1/500
ZO-1 (61-7300, Invitrogen)	x	x	1/500	x	x	1/500

II.1.13 Analyse de l'expression des gènes par RT-qPCR

Cette analyse ne concerne que l'étude n°1.

II.1.13.1 Extraction des ARN

Les échantillons sont broyés dans une solution de TRIzol (40mg de TA pour 1 mL de Trizol) via un ultra-turax. Le TRIzol, essentiellement composé de phénol, est un excellent agent dénaturant des protéines et permet de séparer efficacement les protéines et les acides nucléiques. Une fois que le surnageant a été récupéré, il est incubé 5 minutes à température ambiante afin de dissocier le complexe de nucléoprotéines. Ensuite, 200µL de chloroforme sont ajoutés et les échantillons sont vortexés 15 secondes. Une seconde incubation de 5 minutes à température ambiante est effectuée avant de centrifuger les échantillons à 12000g, pendant 10 minutes à 4°C. La phase aqueuse est prélevée et complétée avec 500µL d'isopropanol 100% dans un nouveau tube stérile. Les échantillons sont incubés à -20°C pendant 3 heures puis centrifugés à 12 000g pendant 10 minutes à 4 °C. Le surnageant est retiré du tube pour ne conserver que le culot d'ARN. Ensuite un rinçage avec 300µL d'éthanol 75% est réalisé puis les tubes sont centrifugés à 7 500g pendant 5 minutes à 4°C. Ces étapes de lavages sont répétées trois fois dans les mêmes conditions hormis pour le dernier où l'éthanol 75% est remplacé par du 100%. Les culots d'ARNm ont été séchés sous la hôte pendant 10min, afin d'évaporer l'alcool restant. L'ARN obtenu est resuspendu dans de l'eau 50µL RNase-free. Le dosage des échantillons est réalisé par spectrophotométrie (NanoDrop Lite). 1µl d'échantillon est nécessaire à la quantification.

II.1.13.2 Reverse Transcriptase (RT)

La transcription de l'ARN en cDNA est une étape intermédiaire indispensable avant de réaliser la q-PCR. Cette étape est catalysée par la transcriptase inverse (Kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit ; Applied Biosystems). Les échantillons sont préparés de façon à obtenir un volume final de 25 µL avec 2 ng d'ARN. Le mix est préparé en suivant les instructions suivantes (Tableau 13) :

Tableau 13 : Composition du mélange (mix) pour réaliser la Reverse Transcriptase (RT)

<i>Composants</i>	<i>Volume</i>
<i>10X RT buffer</i>	5.0 µl
<i>25X dNTP mix (100nM)</i>	2.0 µl
<i>10X RT Random Primers</i>	5.0 µl
<i>Multiscribes Reverse Transcriptase</i>	2.5 µl
<i>RNase inhibitors</i>	2.5 µl
<i>Nuclease free H₂O</i>	8.0 µl
TOTAL	25µl

Les échantillons étaient ensuite placés dans un thermocycleur sous le cycle suivant : 10 minutes à 25°C, 2 heures à 37°C et 5 min à 85°C. Les échantillons sont conservés à -20°C jusqu'à utilisation.

II.1.13.3 qPCR

Les échantillons de cDNA obtenus préalablement sont dilués au 1/10 avec de l'eau RNase free avant d'être vortexés. Ensuite, le mix est préparé selon les proportions présentées dans le tableau 14. Les amorces (désignées via l'outil Pick Primer du NCBI) ont été utilisées pour les gènes AR- α , AR- β , VEGF (« Vascular endothelial growth factor ») et GAPDH (Tableau 15). Ensuite, 8µl de mix complété avec 2µl de cDNA (volume total = 10µl/ puit) sont déposés dans une plaque 96 puits. Deux contrôles sont réalisés afin de s'affranchir de toute contamination :

- Le NTC est composé du Mix et d'eau RNase free. Dans des conditions idéales, aucune hybridation ne doit avoir lieu puisqu'il n'y a pas d'ADN. Ce contrôle permet de certifier la non contamination du Mix.
- Le NAC est un mélange d'ADNc, d'eau RNase free et de chaque amorce. Comme le contrôle précédent, aucune hybridation ne peut se faire en l'absence d'enzyme apportée par le Mix. Cette préparation permet de prouver que l'ADNc n'est pas contaminé.

Avant d'être placée dans un thermocycleur, la plaque est centrifugée rapidement.

Le cycle utilisé était le suivant : 95°C pendant 30 secondes, 35 cycles : 95°C - 5secondes, 60°C - 30 secondes, puis à nouveau 60°C pendant 5 secondes et pour finir la courbe de fusion (« melting curve ») avec la température d'hybridation des amorces 60- 95°C.

La GAPDH a été utilisée comme contrôle interne pour la quantification de l'expression des gènes. Le « fold-change » a été calculé de la façon suivante :

- $\Delta Ct = (Ct_{\text{gène cible}} - Ct_{\text{gène de ménage}})_{\text{Activité physique}} - (Ct_{\text{gène cible}} - Ct_{\text{gène de ménage}})_{\text{contrôle}}$
- Relative quantification = $2^{-\Delta \Delta Ct}$

Le groupe contrôle est fixé à une valeur de 1. Les autres échantillons ont une valeur par rapport à ce groupe.

Tableau 14 : Composition du mix utilisé pour la réaction en chaine par polymérase.

<i>Composant</i>	<i>Volume (n=1)</i>
<i>Sybr green master mix</i>	5.0 µl
<i>primer forward</i>	1.25 µl
<i>primer reverse</i>	1.25 µl
<i>H2O</i>	0.5 µl
TOTAL	8 µl
ADN	2 µl

Tableau 15 : Séquences des amorces utilisées pour l'étude n°1.

<i>Gène</i>	<i>Séquence</i>
<i>AR-α</i>	<i>Forward</i> : TCC-CGC-CAC-TCA-TCT-CCA-TA <i>Reverse</i> : CGT-TAA-TCT-TGC-AGC-TCG-GC
<i>AR-β</i>	<i>Forward</i> : TAG-CAA-GGA-GCC-TGA-CTT-CTG <i>Reverse</i> : TTC-TGG-AGA-GTT-GCG-GTT-CC
<i>VEGF</i>	<i>Forward</i> : CTC-CAC-CAT-GCC-AAG-TGG-TC <i>Reverse</i> : TCT-CAT-CGG-GGT-ACT-CCT-GG
<i>GAPDH</i>	<i>Forward</i> : AGT-CTA-CTG-GCG-TCT-TCA-CC <i>Reverse</i> : CCA-CGA-TGC-CAA-AGT-TGT-CA

II.1.14 Analyse de la composition du microbiote intestinal

II.1.14.1 Extraction d'ADN

Les échantillons de colon ont été transférés dans des tubes ZR BashingBead™ (0.1 & 0.5 mm, Zymo Research) contenant un tampon de lyse (Maxwell® RSC Buffy Coat DNA) puis ils ont été broyés 2 fois 15 secondes avec 2 minutes de repos entre les séries via un precellys. Ensuite, les tubes ont été centrifugés 3 minutes à 14 000g à 4°C. Le surnageant a été prélevé, disposé dans de nouveaux tubes et centrifugé encore une fois afin de s'assurer que toutes les billes aient été enlevées avant d'être placé dans la cartouche de l'extracteur Maxwell® RSC Instrument (Promega). Le tampon d'élution (200µl) est placé dans des tubes à l'endroit spécifié par le fabricant. Après avoir lancé le programme adapté au kit utilisé, l'ADN est extrait des échantillons en environ 45 minutes.

La quantité d'ADN a été mesurée par fluorimétrie (Qubit dsDNA, Invitrogen). Afin de réaliser cette mesure, une « « working solution » est préparée en ajoutant 199µl x n de buffer à 1µl x n de réactif. 190 µl de cette solution est ajouté à 10µl des standards fournis par le kit afin d'établir l'étalonnage de l'appareil. Dans un tube 197µl de « working solution » sont ajoutés à 3µl d'échantillon. Après quelques minutes d'incubation, la mesure peut être réalisée.

La qualité de l'ADN a été évaluée en déterminant les ratios DO 260/280 et 260/230 nm via un nanodrop. Cette mesure ne nécessite que 1 µl d'échantillon. Les échantillons ont également été déposés sur gel d'agarose 1%.

II.1.14.2 Séquençage Illumina Miseq

La première étape est d'amplifier les régions variables V3-V4 de l'ADNs 16S bactérien à partir de l'ADN obtenu précédemment à l'aide d'amorces spécifiques :

- Forward: CTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCTACGGRAGGCAGCAG
- Reverse: GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTTACCAGGGTATCTAATCCT

Toutes les réactions PCR ont été réalisées avec MTP Taq DNA Polymerase et 10X MTP Taq Buffer (SIGMA, D7442-1500U) (Tableau 16) selon les conditions suivantes : 96°C pendant 60 secondes, 30 cycles : 94°C - 60 secondes, 65°C - 60 secondes, 72°C - 60 secondes et pour finir 72°C pendant 10 minutes.

Tableau 16 : Composition du mélange utilisé pour la réaction en chaîne par polymérase.

<i>Composant</i>	<i>Volume (n=1)</i>
<i>Buffer (10X)</i>	5 μ l
<i>dNTP mix 10mM</i>	1 μ l
<i>Forward Primer (20μM)</i>	1.25 μ l
<i>Reverse Primer (20μM)</i>	1.25 μ l
<i>Taq</i>	0,5 μ l
<i>H₂O</i>	qsp 50
TOTAL	50 μ l
ADN	1 μ l

Le séquençage d'Illumina a été réalisé en collaboration avec la plateforme technologique GeT à Toulouse (France) (<http://get.genotoul.fr>) et a été soutenu par une infrastructure nationale France Génomique, financé dans le cadre du programme « Investissement d'avenir » géré par l'Agence Nationale pour la Recherche (contrat ANR-10-INBS-09). Ensuite, l'analyse bio-informatique a été réalisée par le Pr. Bonnet Richard. Les lectures d'Illumina ont été analysées avec le logiciel Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME). Les lectures de tous les échantillons ont été groupées à 97% d'identité de séquence en unités taxonomiques opérationnelles (OTU). Les OTU à faible nombre (<0,1% du nombre total de séquences par échantillon) ont été exclus. Le nombre de taxons (diversité α) a été mesuré via l'indice Chao 1. La richesse des espèces (diversité β) a été déterminée en mesurant la distance entre les communautés en se basant sur « unweighted Unifrac » du tableau OTU permettant d'effectuer l'analyse des coordonnées principales (PCoA). L'identification des différences abondances de genres bactériens entre les groupes a été réalisée via le LEfSe (« linear discriminant analysis effect size »). LEfSe utilise une analyse statistique en deux étapes incluant un test non-paramétrique de Kruskal-Wallis pour identifier les taxons bactériens significativement différents en termes d'abondance entre les groupes, suivi par une analyse discriminante linéaire pour estimer la taille de l'effet de chaque caractéristique différenciellement abondante.

II.1.15 Quantification des acides gras à chaînes courtes

Des prélèvements fécaux congelés ont été pesés puis reconstitués dans 200 µl (étude n°1) et 100 µl (étude n°2) d'eau Milli-Q®. Ensuite, les échantillons ont été disruptés pendant 5 minutes à 4 °C avant d'être incubés pendant 2 heures à 4°C puis centrifugés à 12000g pendant 15 minutes à 4°C. Les surnageant ont été pesés et de l'acide phosphotungstique saturé a été ajouté (1 g pour 100 µl). Après une nuit d'incubation à 4°C, les échantillons ont été centrifugés à nouveau et les concentrations de propionate, butyrate, acétate, isobutyrate, valerate et isovalerate ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse (Nelson 1020, Perkin-Elmer, St Quentin en Yvelines, France) comme décrit précédemment (Lan et al., 2008). Les rapports acétate-butyrate-propionate [$(C2 + C4) / C3$] (Goachet et al., 2010), acétate à butyrate + propionate [$C2 / (C3 + C4)$] (Nishitsuji et al., 2017) et acétate à butyrate ($C2 / C4$) (Allen et al., 2017) ont été calculés.

II.1.16 Statistiques

Les statistiques seront détaillées dans chaque étude compte tenu de la spécificité des tests réalisés pour chaque étude.

Publication n°1

High intensity interval training favours total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats without gut microbiota modulation

F. Maillard^{1,2}, E. Vazeille^{2,3}, P. Sauvanet^{2,4}, P. Sirvent¹, L. Combaret⁵, A. Sourdrille¹, V. Chavanelle¹, R. Bonnet^{2,5}, Y. F. Otero¹, G. Delcros¹, N. Barnich² & N. Boisseau¹.

¹ Université Clermont Auvergne, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

² Université Clermont Auvergne/Inserm U1071; USC-INRA 2018, Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte (M2iSH), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

³ Université Clermont Auvergne, Inserm, 3iHP, CHU Clermont-Ferrand, Service d'Hépatogastro-Entérologie, Clermont-Ferrand, France.

⁴ Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Service de chirurgie digestive, Clermont-Ferrand, France

⁵ Department of Bacteriology, CHU Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France.

⁶ Université Clermont Auvergne, INRA, UNH, Unité de Nutrition Humaine, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

ABSTRACT

Aims: Increased visceral adipose tissue and dysbiosis in people with overweight or obesity promote chronic inflammation. This study aims were to compare the effects of moderate-intensity continuous training (MICT) and high-intensity interval training (HIIT) on the gut-adipose tissue cross-talk in obese Zucker rats.

Methods: Obese male Zucker rats (n=36) were divided in three groups: MICT (12m.min⁻¹ for 51min), HIIT (6 sets at 18 m.min⁻¹ for 4min followed by 3min at 10m.min⁻¹) and controls (CONT; no exercise). Animals ran on a treadmill 5 days/week for 10 weeks. Body composition, glycaemic control, lipid profile, inflammation, lipolysis signalling in subcutaneous and visceral adipose tissue, intestinal permeability (tight junctions and plasma lipopolysaccharide binding protein; LBP), and gut microbiota composition were assessed in the three groups.

Results: After 10 weeks of exercise, total and epididymal fat mass were reduced only in the HIIT group. The α/β adrenergic receptor RNA ratio in subcutaneous adipose tissue was increased only in the HIIT group. The expression level of phosphorylated hormone-sensitive lipase was not modified by training. Both HIIT and MICT decreased inflammation (plasma myeloperoxidase and keratinocyte-derived chemokine secretion in adipose tissue) and improved glucose metabolism. Zonula occludens-1 and occludin were upregulated in the HIIT group, whereas plasma LBP was similarly reduced in both training groups. HIIT and MICT did not affect gut microbiota composition.

Conclusion: In obese Zucker rats, HIIT and MICT improved inflammation and glucose metabolism; however, only HIIT decreased total and visceral fat mass. These adaptations were not associated with modifications in gut microbiota composition.

KEYWORDS: Exercise modality, fat mass loss, glucose metabolism, gut microbiota composition, inflammation.

1 | INTRODUCTION

Obesity has dramatically increased worldwide in recent decades and is now a critical health problem. In 2014, 1.9 billion people were overweight and among them 600 million were obese in developed and developing countries¹. Obesity is characterized by a low-grade inflammation state^{2,3}. Abdominal fat mass (FM), especially visceral FM, is associated with metabolic disorders and inflammatory state to a greater extent than total and subcutaneous FM⁴. Visceral FM is characterized by a larger secretory activity (free fatty acids, TNF- α , IL-6, IL-8, *etc.*) that promotes insulin resistance, chronic low-grade inflammation and risks of cardiovascular disease^{5,6}.

More recently, gut microbiota has been recognized as a major actor in pathological conditions associated with obesity and its related complications^{7,8}. This relationship was confirmed by the adiposity increase in germ-free mice after faecal microbiota transplant from obese mice (*ob/ob*)⁹. Moreover, a reduced microbial diversity and dysbiosis (*i.e.*, a microbial imbalance, characterized by an alteration of the Bacteroidetes/Firmicutes ratio) has been observed in people with overweight or obesity and in animal models of

obesity^{10,11}. Gut microbiota is an exteriorized organ that can interact directly with other organs. Butyrate, propionate and acetate, the main short-chain fatty acids (SCFAs) produced by microbial fermentation, favourably influence the host metabolism by producing anorexigenic hormones via colonic epithelial cells^{12,13}, by increasing the energy expenditure¹⁴ and reducing inflammation¹⁵. High-fat diets induce dysregulation of intestinal permeability, favouring the increase of plasma lipopolysaccharide (LPS) (*i.e.*, a constituent of Gram-negative bacteria), defined as metabolic endotoxemia¹⁶, and trigger inflammation and insulin resistance¹⁷.

Regular physical activity, alone or combined with energy restriction, is an effective way to prevent and/or reduce excess adiposity¹⁸. Traditionally, Moderate Intensity Continuous Training (MICT) is recommended for people with overweight or obesity; however, this exercise modality has little effects on weight and FM loss^{19,20}. In the last few years, High Intensity Interval Training (HIIT) has grown in popularity as a time-efficient and powerful strategy to reduce total and abdominal/visceral FM^{21,22}. Adrenergic receptors (α/β AR

ratio) might be implicated in such adaptations, but other, still unknown mechanisms could contribute to FM loss. In this context, modulation of gut microbiota composition by physical activity is an interesting hypothesis. Numerous studies have demonstrated that moderate-intensity training can favourably alter gut microbiota composition in humans²³ and animal models²⁴⁻³¹. In rodents, most of these studies used MICT protocols that involve treadmill running or spontaneous activities on a running wheel. Only two works investigated HIIT effects on gut microbiota composition. Batacan *et al.* found slight differences in gut microbiota phylotype in Wistar rats after MICT and HIIT without any association with FM loss³². Similarly, despite changes in gut microbiota composition, Denou *et al.* did not detect any FM loss after HIIT in C57BL/6 mice³³.

Therefore, the aim of the present study was to compare the effect of HIIT and MICT programmes on total and visceral FM loss in Zucker rats, a genetic model of obesity. We hypothesized that HIIT is more efficient than MICT in decreasing total and visceral FM. We also wanted to determine whether gut microbiota modulation is involved in the reduction of the amount of adipose tissue, and whether the metabolic and

inflammatory profiles are improved more efficiently by HIIT than by MICT.

2 | RESULTS

HIIT is a time-efficiency strategy to decrease total and epididymal fat mass

After 1 week of treadmill acclimatization, adult Zucker rats were randomly divided in three groups: HIIT (n=12), MICT (n=12) or CONT (no exercise) (n=12). No significant difference in food intake among groups was observed during the study duration (Figure 1). Despite our attempt to match running distances between groups, rats in the MICT group ran greater distances (23.3 ± 0.3 vs 21.4 ± 0.7 km) ($p \leq 0.05$) and for longer time (1941 ± 25 vs 1510 ± 33 min) ($p \leq 0.001$) than rats in the HIIT group. After 10 weeks of training, body weight and total lean mass were comparable among groups (Figure 2a and 2b). However, total FM was lower in the HIIT than CONT group at week 5 ($p \leq 0.05$) and week 8 ($p \leq 0.01$), and in the HIIT group than in the MICT group at the end of the training protocol ($p \leq 0.05$) (Figure 2c). At the end of the study, epididymal (visceral) adipose tissue was reduced only in the HIIT group ($p \leq 0.05$) (Figure 2d).

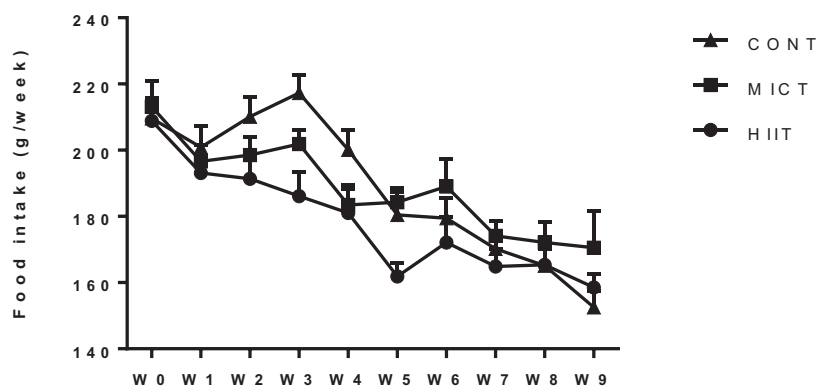


Figure 1: Weekly food intake. Data are expressed as the mean \pm SEM.

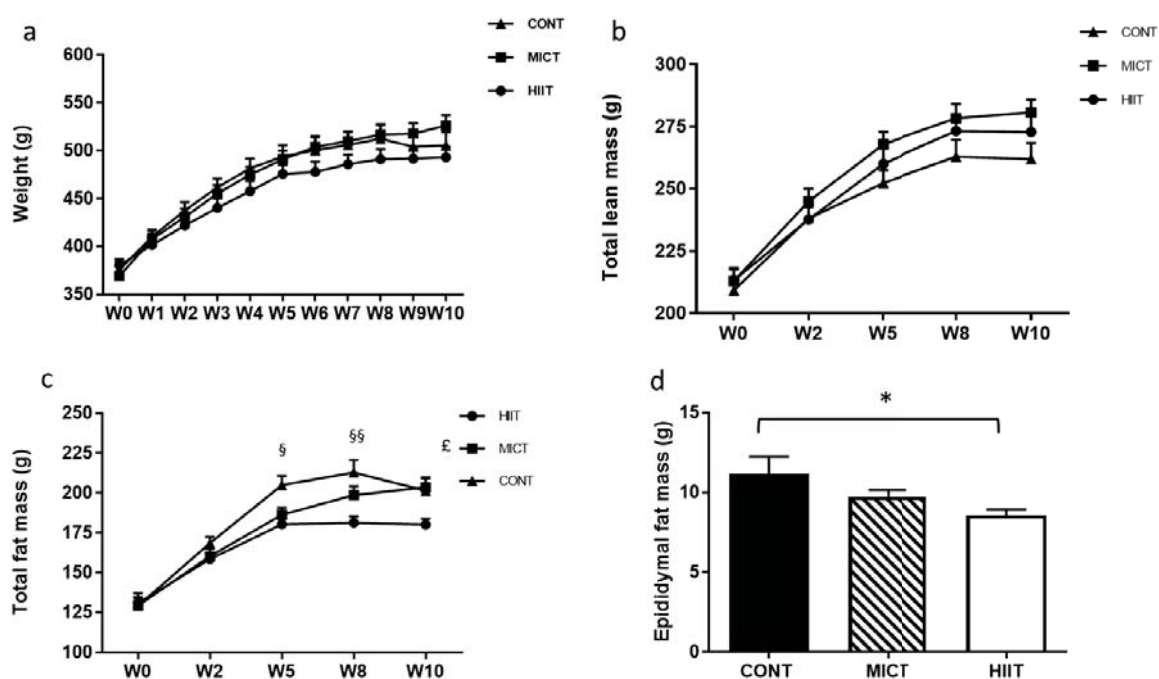


Figure 2: Effect of 10 weeks of exercise training on weight and body composition. Body weight (a), total lean mass (b), total fat mass (c) and epididymal fat mass (d). Data are expressed as the mean \pm SEM. § $p \leq 0.05$ CONT vs. HIIT; § § $p \leq 0.01$ CONT vs. HIIT £ $p \leq 0.05$ HIIT vs. MICT and * $p \leq 0.05$.

Gut microbiota composition and faecal short chain fatty acid concentration are not modified by exercise training

To investigate the impact of the two exercise modalities on gut microbiota

composition, the eubacterial 16S rRNA genes present in colon tissue were sequenced. The alpha diversity index (Chao1) did not highlight any significant difference in species richness in the three

groups at the end of the training programme (week 10) (Figure 3a). The beta-diversity analysis based on the uniFrac distance coupled with Principal coordinate analysis (PCoA) showed no clustering of samples (Figure 3b). Similarly, the faecal concentrations of the major SCFAs (butyrate, acetate and propionate) (Figure 3c) and other SCFAs (formate,

heptanoic acid, hexanoic acid, isobutyrate, isovalerate, 4-methylvaleric acid and valerate) (data not shown) were not significantly different in the three groups. In agreement, the acetate to butyrate (C2/C4), acetate + butyrate to propionate [(C2+C4)/C3], and acetate to butyrate + propionate [C2/(C3+C4)] ratios did not change with training (data not shown).

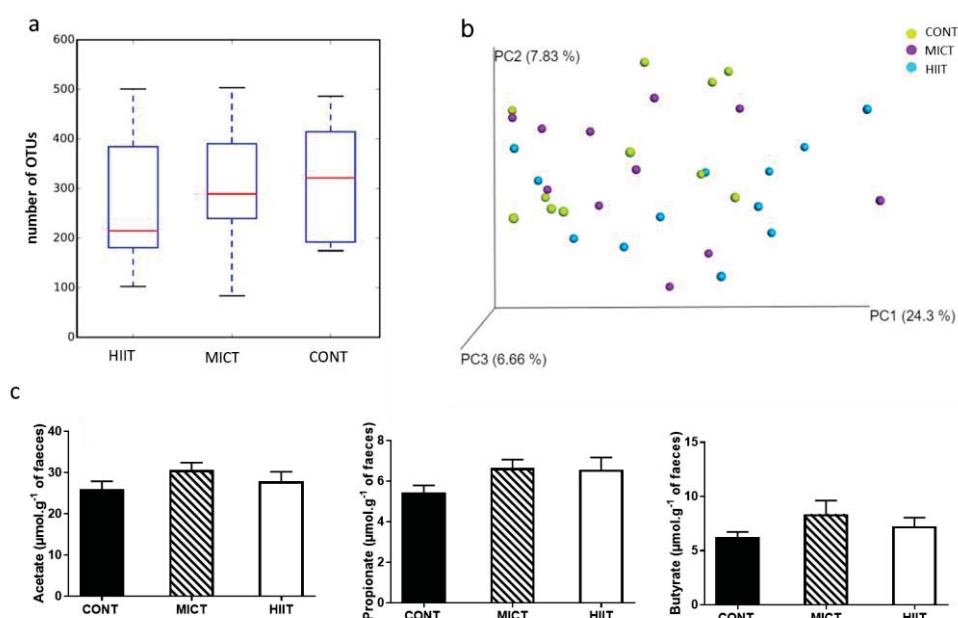


Figure 3: Effect of 10 weeks of exercise training on gut microbiota and faecal concentration of short-chain fatty acids (SCFAs). Gut microbiota composition: Chao1 index (a), PCoA plots (b). SCFA concentration in faeces after 10 weeks of training (c). Data are expressed as the mean \pm SEM.

HIIT stimulates tight junction protein synthesis more efficiently than MICT, but both training modalities decrease plasma lipopolysaccharide binding protein (LBP)

At the end of the training programme, zonula occludens-1 (ZO-1) (MICT vs CONT;

$p \leq 0.05$ and HIIT vs CONT; $p \leq 0.005$) and occludin (MICT vs CONT; $p \leq 0.01$ and HIIT vs CONT; $p \leq 0.001$) were upregulated in both training groups, particularly in the HIIT group (Figure 4a, b and c). Moreover, occludin expression level was significantly

correlated with epididymal adipose tissue depots ($r = -0.5$; $p \leq 0.05$) and total FM change (FM at week 10 - FM at baseline) ($r = -0.4$; $p \leq 0.05$). Occludin and ZO-1 were also negatively linked to IL-6 secretion in epididymal adipose tissue ($r = -0.4$, $p \leq 0.05$

for both). Finally, expression of LBP (a marker of obesity^{34,35} and metabolic endotoxemia³⁶) was reduced by about 50% in both HIIT and MICT groups ($p \leq 0.01$ vs CONT) (Figure 4d).

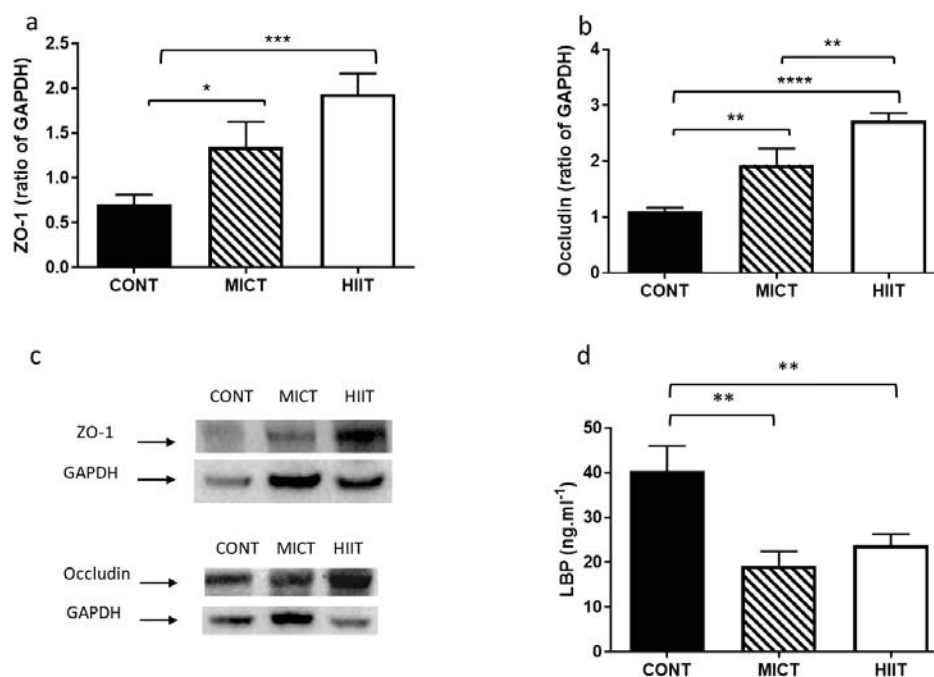


Figure 4: Effect of 10 weeks of training on intestinal permeability. Zonula occludens-1 (ZO-1) (a) and occludin (b) expression were assessed by western blotting. Representative images of the western blot results (c). Plasma levels of lipopolysaccharide binding protein (LBP) determined by ELISA (d). Data are expressed as the mean \pm SEM; * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ and *** $p \leq 0.001$.

MICT and HIIT induce anti-inflammatory effects at the systemic and adipose tissue levels

At the end of the training programme (week 10), secretion of free fatty acids (FFA) was reduced in subcutaneous adipocytes ($p \leq 0.05$ HIIT and MICT vs CONT), but not in the epididymal tissue

(Figure 5a and b). Conversely, keratinocyte-derived chemokine (KC) secretion was reduced in the epididymal adipose tissue ($p \leq 0.05$ HIIT and MICT vs CONT), but not in subcutaneous adipocytes (Figure 5c and d). On the other hand, IL-6 secretion in the two types of adipose tissue was not significantly different compared with CONT (Figure 5e

and f). At the systemic level, the plasma concentration of myeloperoxidase (MPO) was decreased in both MICT and HIIT

groups after 10 weeks of training ($p \leq 0.05$ vs CONT) (Figure 5g). Plasma MPO levels

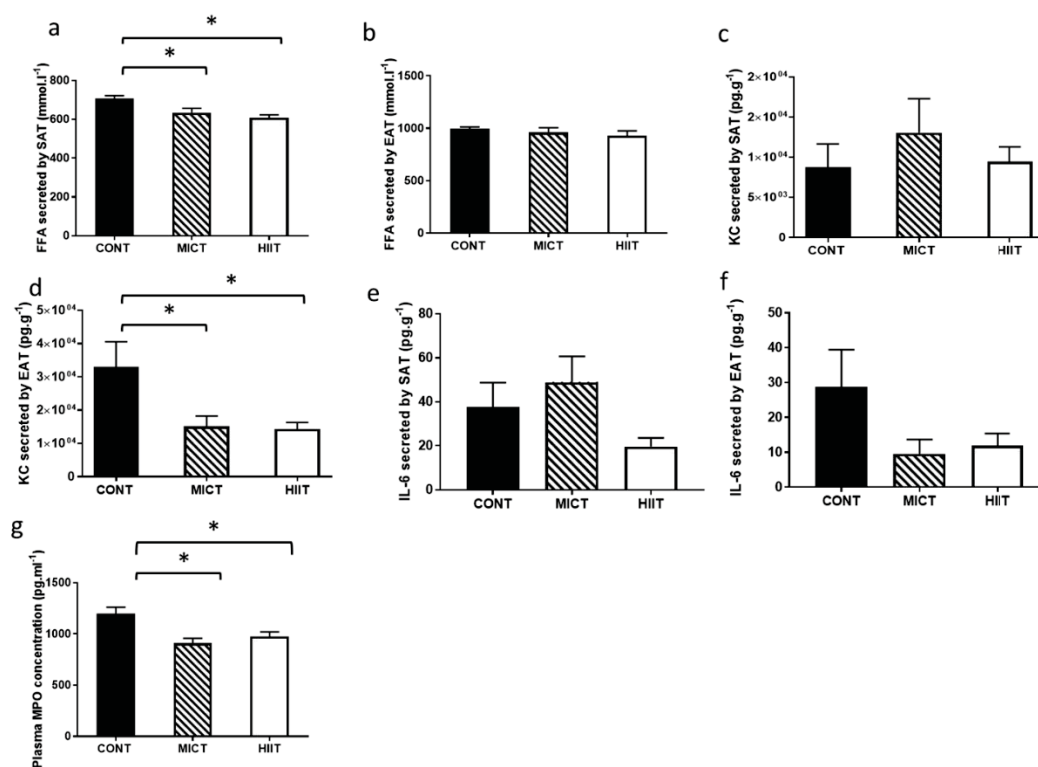


Figure 5: Effect of 10 weeks of exercise training on adipose tissue and systemic inflammation. Free fatty acid (FFA) secretion by subcutaneous adipose tissue (a) and visceral adipose tissue (b). Keratinocyte-derived chemokine (KC) secretion by subcutaneous adipose tissue (c) and visceral adipose tissue (d). IL-6 secretion by subcutaneous adipose tissue (e) and visceral adipose tissue (f). Plasma myeloperoxidase (MPO) concentration (g). Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p \leq 0.05$ vs CONT.

were positively associated with plasma LBP levels ($r = -0.5$; $p \leq 0.001$).

Only HIIT increases the $\alpha 2$ AR/ $\beta 3$ AR ratio in subcutaneous adipose tissue

At the end of the training programme, the α/β adrenergic receptor RNA ratio in subcutaneous adipose tissue was increased

in the HIIT group compared with the CONT ($p \leq 0.001$) and MICT ($p \leq 0.01$) groups, but not in epididymal adipose tissue ($p \geq 0.05$) (Figure 6a and b). The level of phosphorylated hormone-sensitive lipase (phospho-HSL) in subcutaneous (Figure 6c) and epididymal adipose tissue (Figure 6d) was not modified by exercise training.

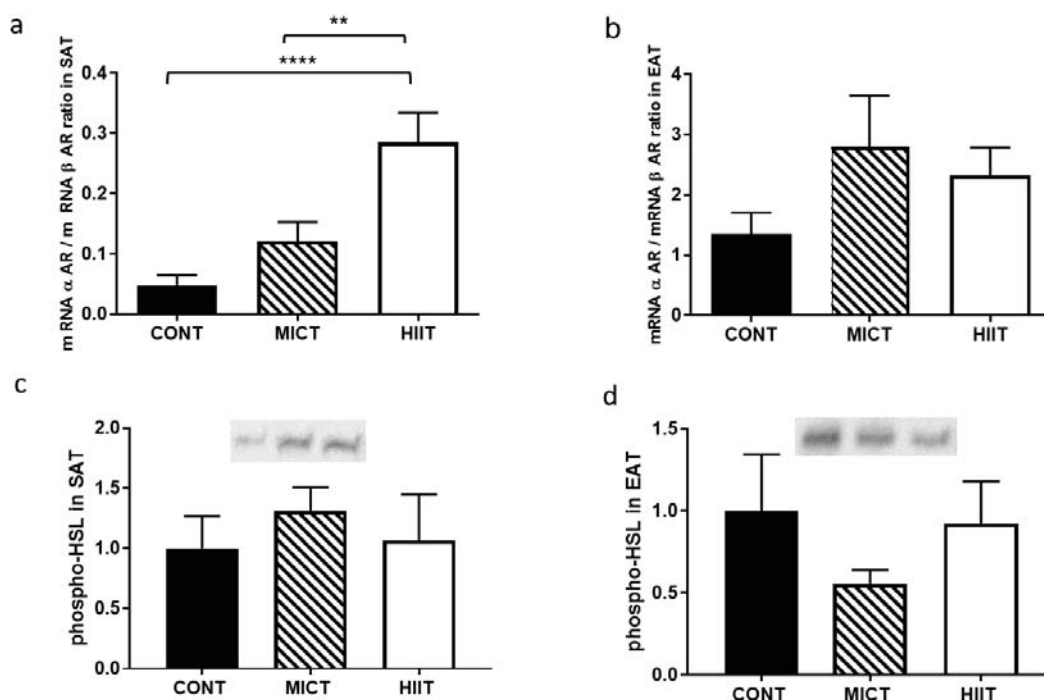


Figure 6: Effect of 10 weeks of exercise training on the α adrenergic receptor/ β adrenergic receptor (α AR/ β AR) ratio determined by q-PCR in subcutaneous adipose tissue (a) and epididymal adipose tissue (b). Level of phosphorylated hormone-sensitive lipase (phospho-HSL) in subcutaneous adipose tissue (c) and epididymal adipose tissue (d). Data are expressed as the mean \pm SEM; ** $p \leq 0.01$ and *** $p \leq 0.001$.

HIIT and MICT improve glucose metabolism, but do not modify the lipid profile

Fasting glycaemia was not different in the three groups at the end of the study (week 10) (Table 1). Repeated measures ANOVA of the results of the oral glucose tolerance test (OGTT) performed at the end of the training programme showed a significant time \times group interaction at 90min ($p \leq 0.01$)

with higher values in the CONT than in the MICT and HIIT groups (Figure 7a). The net area under the curve (AUC_{net}) was lower in the MICT and HIIT groups than in the CONT group ($p \leq 0.05$) (Figure 7b). After 10 weeks, the plasma level of LDL cholesterol was higher in the MICT than in the CONT group ($p \leq 0.05$). Conversely, plasma total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and FFA were not modified by physical training (Table 1).

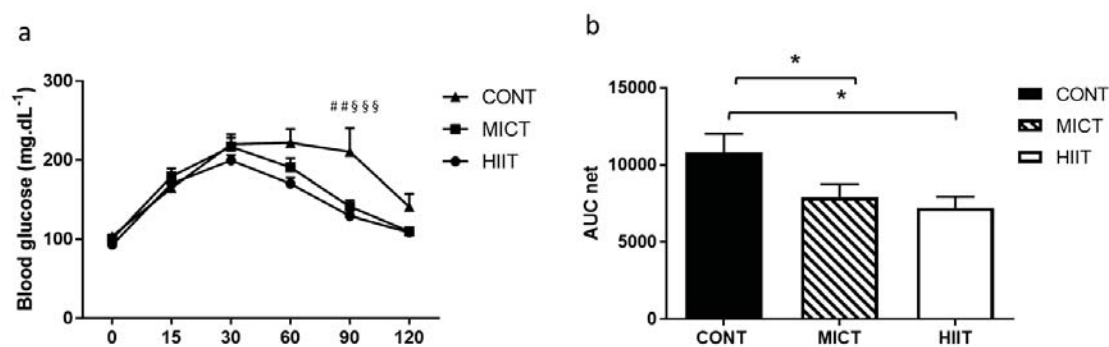


Figure 7: Blood glucose monitoring during the oral glucose tolerance test (a) and net area under the curve (AUC_{net}) for glucose (b) at the end of the 10 weeks of exercise training in the three groups. Data are expressed as the mean ± SEM. ## p ≤ 0.01 CONT vs MICT; § § § p ≤ 0.001 CONT vs HIIT and *p ≤ 0.05.

Table 1: Lipid and glycaemic profiles after 10 week of training (mean ± SEM). # p ≤ 0.05 CONT vs MICT; £ p ≤ 0.05 MICT vs HIIT

	Total Chol (mg.dL ⁻¹)	LDL (mg.dL ⁻¹)	HDL (mg.dL ⁻¹)	TG (mg.dL ⁻¹)	FFA (mmol.L ⁻¹)	Insulin (ng.mL ⁻¹)	Glucose (mg.dL ⁻¹)	HOMA- IR
CONT	227.1 ± 14.4	260.2 ± 21.4	69.0 ± 10.9	603.0 ± 141.9	556.5 ± 127.7	2.5 ± 0.6	101.9 ± 5.6	17.4 ± 3.5
MICT	217.8 ± 9.6	314.5 ± 12.6 ^{#£}	80.2 ± 5.6	426.5 ± 44.8	415 ± 40.9	3.4 ± 1.0	100.3 ± 3.3	25.0 ± 9.0
HIIT	209.2 ± 11.6	270.1 ± 15.2	74.9 ± 8.0	450.8 ± 27.4	493.9 ± 47.3	2.6 ± 1.1	96.1 ± 3.9	17.1 ± 6.7

Chol, cholesterol; LDL, low-density lipoproteins; HDL, high-density lipoproteins; Tg, triglycerides; FFA, free fatty acids; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance.

HIIT and MICT modify the resting respiratory exchange ratio, but not the mean daily spontaneous physical activity and energy intake

After 10 weeks of training, the mean daily total energy expenditure and food intake (for the 12h-light period and during 24h) were comparable in the three groups (Table 2). Conversely, for the 12h-dark period, spontaneous physical activity was increased in the two training groups (p

≤ 0.05), and energy intake was higher in the MICT than in the CONT group (p ≤ 0.05).

At the end of the study, the respiratory exchange ratio (RER), evaluated by indirect calorimetry in rats housed in calorimetry cages for 24h, was significantly higher in the two training groups (0.97 ± 0.01 in the HIIT and 0.97 ± 0.01 in the MICT vs 0.93 ± 0.01 in the CONT group; p ≤ 0.05) (Table 2).

Table 2: Indirect calorimetry results after 10 weeks of training (mean \pm SEM). # $p \leq 0.05$ CONT vs. MICT; \$ $p \leq 0.05$ CONT vs. MICT; $p \leq 0.05$ MICT vs. HIIT

	24 hours				12h-light (08:05-20:00)				12h-dark (20:05-8:00)			
	EE/LM (kJ/g)	RER	Spontaneous activity (m)	Food intake (g)	EE/LM (kJ/g)	RER	Spontaneous activity (m)	Food intake (g)	EE/LM (kJ/g)	RER	Spontaneous activity (m)	Food intake (g)
HIIT	0.93 \pm 0.01	0.97 \pm 0.01	211.1 \pm 11.79	22.31 \pm 0.94	0.50 \pm 0.01	0.97 \pm 0.01	131.1 \pm 8.96	13.69 \pm 0.63	0.42 \pm 0.01	0.96 \pm 0.01	73.9 \pm 3.71	7.91 \pm 0.53
MICT	0.93 \pm 0.02	0.97 \pm 0.01	184.9 \pm 14.15	21.79 \pm 0.79	0.50 \pm 0.02	0.97 \pm 0.01	112.4 \pm 8.31	13.78 \pm 0.78	0.43 \pm 0.01	0.96 \pm 0.01	67.6 \pm 6.31	8.36 \pm 0.41
CONT	0.95 \pm 0.04	0.93 \pm 0.01 [#] \$	171.8 \pm 13.43	19.05 \pm 1.21	0.51 \pm 0.02	0.94 \pm 0.01	113.5 \pm 10.93	12.57 \pm 0.83	0.43 \pm 0.02	0.91 \pm 0.02 [#] \$	50.5 \pm 4.27 [#] \$	6.36 \pm 0.73 [#]

EE: energy expenditure, LM: Lean mass, RER: respiratory exchange ratio.

3 | DISCUSSION

This study in Zucker rats, a genetic model of obesity, confirms that compared with MICT, HIIT decreases more efficiently total FM, and particularly visceral adipose tissue that is responsible for many metabolic complications. Moreover, both exercise training modalities reduced systemic and adipocyte inflammation and improved glucose metabolism. Finally, endotoxemia reduction was comparable in both training groups (LBP expression), although HIIT increased the synthesis of tight junction proteins to a greater extent compared with MICT. These positive adaptations observed in the HIIT group where rats ran shorter distances than those in the MICT group

highlight the time efficiency of this exercise modality.

MICT protocols are still traditionally recommended to sedentary individuals with overweight/obesity for FM reduction. Nevertheless, a growing body of evidences shows that HIIT can be a more amusing and time-efficient exercise modality to lose total and visceral adipose tissue ^{21,22,37,38}. For instance, we recently demonstrated that in postmenopausal women with type 2 diabetes, HIIT twice a week for 16 weeks reduces total and visceral FM more efficiently than MICT ³⁷. Our present results in obese Zucker rats confirm that HIIT (6 sets at 18 m.min⁻¹ for 4min followed by 3min at 10 m.min⁻¹ for 10 weeks) significantly reduces total and epididymal

FM compared with MICT (12 m.min⁻¹ for 51min for 10 weeks). Other studies also demonstrated a greater effect of HIIT on total and abdominal FM loss compared with MICT in different animal models of obesity. Wang et al. showed that in mice fed a high-fat diet, the adiposity index (44% and 53%, respectively) was lower in the HIIT (10 x 4min [85–90% VO₂max]/2min active rest [5 m.min⁻¹]) than in the MICT group (65–70% of VO₂max [distance-matched continuous running])³⁹. Similarly, in male Sprague-Dawley rats fed a high-fat diet, HIIT (30sec [32 m.min⁻¹]/10sec passive recovery, 5° slope) decreased epididymal FM, whereas MICT (16 m.min⁻¹ for 40min, 5° slope) had no effect⁴⁰. To our knowledge, only one study assessed the effects of a HIIT protocol (4min at 65-80% of VO₂ max/3min at 50-65% of VO₂ max) in Zucker rats, and found a reduction of FM and abdominal fat pad in the HIIT group (5.7±0.2 vs. 6.4±0.2g in the control group without exercise)⁴¹.

However, the mechanisms by which HIIT decreases abdominal and especially visceral FM are still unknown. Here, we evaluated the potential role of the gut microbiota in such adaptations. In our study, exercise (MICT and HIIT) did not have any effect on gut microbiota

composition (quantity and function). Furthermore, the main faecal SCFAs (acetate, propionate and butyrate) were not modified by the two exercise modalities. This result is surprising because previous studies have often reported that bacterial richness and function are improved by regular physical activity, and that some bacterial species linked to the anti-inflammatory profile, health and leanness could also be increased by exercise^{27,28,30,31,42–44}. To investigate the effect of exercise on gut microbiota, MICT training or spontaneous exercise (spontaneous activity wheel) are generally used, and only two studies tested the effect of a HIIT programme on gut microbiota modulation. The first one found an increase in Bacteroidetes/Firmicutes ratio and in *Lactobacillus*, *Bacteroidales* and *Dorea* species in mice after HIIT training, without any change in the epididymal FM, suggesting no correlation between these variables³³. The second study reported slight differences in gut microbiota composition in MICT and HIIT trained rats (increase of *Parasutterella excrementihominis* and *Lactobacillus johsonii* in the MICT group, and of *Clostridium saccharolyticum* in the HIIT group). Unfortunately, total and visceral FM were not measured in this study³². In

Zucker rats, only one study evaluated gut microbiota modulation after a MICT training programme (12.5 m.min⁻¹ for 30min, 5 days per week for 4 weeks). At the end of the training period, the authors found that the gut microbiota composition was changed ²⁶. However, this analysis concerned only faecal samples of three animals/group, whereas in our study, 16S rRNA gene expression in colon tissue was investigated, which is a more suitable assay ^{45,46}.

In our experimental setting, the lack of gut microbiota modulation after training could be linked to the animal model used. Several recent studies performed in humans suggest that an extreme amount of adipose tissue could mask the changes in gut microbiota composition induced by regular exercise ^{23,47,48}. Nevertheless, the absence of gut microbiota modulation in Zucker rats cannot be explained only by the excess FM in these animals because Lamoureux *et al.* observed minor effects of spontaneous exercise on gut microbiota composition also in C57BL/6 mice with normal weight ⁴. Therefore, other factors than weight or total FM could explain the absence of gut microbiota modulation after MICT or HIIT in our study. As most of the publications on exercise and gut microbiota are

observational studies, the potential links between physical activity and gut microbiota modulation are still unknown and mechanistic investigations in animal models are needed. Furthermore, the lack of protocol standardization for gut microbiota analysis (DNA extraction, regions analysed, bioinformatics analysis *etc.*) also could complicate the result interpretation. In addition, gut microbiota can return to its initial functional or taxonomical composition following a perturbation, which is defined as resilience. As we did not analyse gut microbiota during the training programme, we do not know whether gut microbiota is resilient or resistant to training interventions.

Intestinal permeability is regulated by the tight-junction proteins claudin, occludin, and ZO-1. In obesity, their expression, localization and distribution are altered ⁷, leading to an association between obesity (FM) and intestinal permeability ⁴⁹. In our study, the colon expression of occludin and ZO-1 was increased at the end of the HIIT and, to a lower extent, MICT programme. Moreover, the amount of epididymal adipose tissue was negatively associated with their expression level, reinforcing HIIT beneficial effect. This result is interesting

because it is often suggested that physical activity, especially high intensity and long duration exercises, could induce gut ischemia, leading to increased intestinal permeability (when at least 50% of blood flow is reduced⁵⁰). This phenomenon is called the “leaky gut”. Intestinal permeability is 1.5 to 3 times higher in high-level athletes than in recreational exercisers⁵¹, and many strategies have been developed to counteract leaky gut in elite athletes⁵². However, if duration and physical activity level are correctly controlled over a long period, exercise is beneficial for gut health. Holland *et al.* showed that 10 days of exercise in Sprague–Dawley rats (30m.min⁻¹ for 60min, 5 days/week) reduces 24h post-exercise intestinal inflammation and reinforces the intestinal barrier function⁵³. In agreement, our study showed a negative correlation between expression of occludin and ZO-1 and IL-6 secretion by the epididymal adipose tissue. Moreover, secretion of KC (the analogue of human IL-8) was decreased in epididymal adipose tissue. In humans, plasma IL-8 is elevated in individuals with obesity and is associated with abdominal adiposity and insulin sensitivity⁵⁴. Neels *et al.* showed in genetically and diet-induced obese mice an increase of KC in the blood and in the

epididymal adipose tissue⁵⁵. They also found that after KC treatment, adipogenesis is not directly affected, but inflammatory factors (MCP-1, IL-6, TNF- α) are increased in adipose tissue⁵⁵, leading to low-grade systemic inflammation. Similarly, we observed that HIIT and MICT can decrease systemic inflammation, as indicated by the lower levels of MPO, a biomarker of inflammation and cardiovascular risks⁵⁶.

It is well-known that intestinal permeability favours metabolic endotoxemia, defined as an increase in LPS plasma levels^{16,57}. When LPS is in the bloodstream, it is recognized by LBP and forms LBP-LPS complexes. LBP levels are correlated with abdominal FM⁵⁸, making of LBP a good obesity marker^{34,35}.

In our study, plasma LBP was similarly reduced by MICT and HIIT. This positive exercise effect is supported by the finding that plasma LPS is reduced in male Wistar rats after chronic (1h/day, 5 days/week, for 8 weeks) and acute swimming exercise (two 3h bouts, separated by a 45min rest period)⁵⁹.

A second hypothesis concerning the greater impact of HIIT on visceral fat mass loss might be linked to a greater lipolytic activity. Adipocyte lipolysis is regulated by pro-lipolytic pathways mediated by β AR

and natriuretic peptide receptors and by anti-lipolytic pathways via α AR and insulin through insulin receptor substrate-1 (IRS-1). As β AR expression is higher in visceral than in subcutaneous adipose tissue⁶⁰, the higher catecholamine production induced by HIIT⁶¹ could explain the greater reliance on visceral FM during HIIT. In our study, HIIT (but not MICT) increased the α AR/ β AR mRNA ratio in subcutaneous adipose tissue, suggesting a greater anti-lipolytic activity. Although we expected a greater lipolytic effect in the visceral than in subcutaneous adipose tissue, this result is interesting. Indeed, a greater capacity to enlarge subcutaneous adipose tissue can prevent FM ectopic deposition and visceral adipose tissue development, as previously described. Moreover, although the α AR/ β AR mRNA ratio in visceral adipose tissue was not changed by physical training, the receptor sensitivity could be modified. Exercise could concomitantly reduce α AR sensitivity and increase β AR sensitivity, as already shown in subcutaneous adipose tissue^{62,63} of obese subjects. To highlight a possible increase of lipolytic activity in visceral adipose tissue, we measured the phosphorylation level of HSL. HSL and adipose triglyceride lipase (ATGL) are responsible for more than 90% of triglyceride hydrolysis⁶⁴, but only HSL

induces PKA-dependent lipolysis⁶⁵. The amount of phospho-HSL was not influenced by physical activity. Moreover, as HSL expression potentially mirrors ATGL expression⁶⁶, we hypothesize that ATGL expression also was not modified by our training programmes.

Exercise, especially HIIT, also enhances insulin sensitivity and this could reduce fatty acid uptake and lipogenesis in visceral adipose tissue⁶⁷. In our study, both exercise modalities (MICT and HIIT) decreased the glucose AUC_{net} after OGTT and improved glucose utilization at rest (as shown by the respiratory exchange ratio at the end of the study). More accurate methods to evaluate insulin sensitivity than the HOMA-IR used in our study (such as the insulin tolerance test or the hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique) could help addressing this hypothesis. Nevertheless, in our study, the improved glucose metabolism can be partly explained by the reduction of KC secretion in the adipose tissue and by the decrease in LBP levels^{55,59}. The positive association between LBP and the glucose AUC_{net} supports this hypothesis ($r=0.4$).

In conclusion, in this genetic model of obesity, HIIT leads to a reduction in total and visceral FM more efficiently than MICT.

Contrary to our initial hypothesis, gut microbiota composition is not involved in exercise-induced FM loss in obese Zucker rats. FM decrease might be explained by specific changes in the lipolysis pathway, including the sensitivity of adrenergic or insulin receptors, lipase activities or mitochondrial adaptations. On the other hand, the excess of adipose tissue in Zucker rats could limit gut microbiota modulation, suggesting that diet-induced obesity models could be more suitable to investigate the potential link between FM loss and gut microbiota. Finally, despite the lack of HIIT-induced changes in microbiota composition, we found that both training methods (MICT and HIIT) favour total FM loss and decrease inflammation, improving intestinal permeability, decreasing LBP and enhancing glucose metabolism. As the HIIT programme was based on running a shorter distance for a shorter time, this modality appears as a time-efficient strategy in obesity.

4 | MATERIAL AND METHODS

4.1 | Animals

Seventy-five 8-week-old males Zucker rats from Charles River were individually housed with a reversed light-dark cycle in a temperature-controlled room (21°C). All

animal procedures were approved by the local ethics committee (CE2A-02, Auvergne, France). After 1 week of treadmill acclimatization, 36 rats were selected and randomly assigned to one of the three groups: HIIT (n=12), MICT (n=12) or CONT (no exercise)(n=12). After 10 weeks of training, animals were killed by decapitation before tissue harvesting.

4.2 | Exercise training

Exercise training was performed on a motorized treadmill at 0° inclination 5 days/week (Monday to Friday) for 10 weeks. Both groups started with a warm-up at 10 m.min⁻¹ for 5min. In the HIIT group, rats ran 6 sets of 4min at 18m.min⁻¹ followed by 3min at 10m.min⁻¹. In the MICT group, animals ran at 12m.min⁻¹ for 51min. The protocols were originally designed to have identical total running distance between groups, as proposed by Metz *et al.* 2005 ⁶⁸, Kapravelou *et al.* 2015 ⁴¹ and Haram *et al.* 2009 ⁶⁹. CONT rats were placed in the training room during the sessions to expose them to the same environment and for the same time the HIIT and MICT groups.

4.3 | Food intake, weight and body composition

Food (3% fat, 16% protein, 60% carbohydrates, 5% minerals, and 4% fibres; SAFE A04, France) and water were provided *ad libitum*. Food intake was recorded once a week (on Thursday).

Weight was recorded weekly during the 10 weeks of training (W0 to W10). At week 0, 2, 5, 8 and 10, body composition was measured by MRI (Echo Medical Systems, Houston, TX), and epididymal fat pads were weighed *post-mortem*.

4.4 | Indirect calorimetry

At week 10 (end of the training), rats were placed in indirect calorimetric cages (TSE Systems, Bad Homburg, Germany) for 48h (24h of familiarization and 24h of measurements) with *ad libitum* access to food and water. Metabolic measurements (O_2 and CO_2 consumption, food intake and spontaneous activity) were recorded. The respiratory exchange ratio (RER) was determined as the ratio of produced CO_2 (VCO_2) over consumed O_2 (VO_2). Data were analysed during 24h, and in 12h-light and 12h-dark conditions.

4.5 | Oral Glucose Tolerance test (OGTT)

OGTTs were performed at the beginning and at the end of the study. After 6h of fasting followed by oral gavage of glucose ($4.0 \text{ g.kg lean mass}^{-1}$), glycaemia was monitored using a glucometer (Accu-chek Performa, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) and tail blood samples taken at 15, 30, 60, 90 and 120min post-gavage. The area under the curve for glucose (AUC) and the AUC_{net} (after subtraction of the baseline glucose concentration) were calculated. The homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) index was used to assess IR as follows: $\text{fasting insulin (mU.L}^{-1}) \times \text{fasting glucose (mmol.L}^{-1}) / 22.5$ ⁷⁰

4.6 | Post-mortem blood samples and plasma measurements

At the end of the study, blood was collected and centrifuged at 2000g for 10min for plasma separation. All samples were frozen at -80°C until analysis. Plasma insulin was measured with the Ultrasensitive Insulin ELISA Kit (ALPCO, Salem, NH, USA). Lipid profile was determined by quantifying plasma lipoproteins and lipids using commercial kits following the manufacturer's instructions: triglycerides (Max Discovery,

Austin, USA), LDL (Crystal Chem, Downers Grove, USA), HDL (Crystal Chem, Downers Grove, USA) and total cholesterol (Max Discovery, Austin, USA). LBP plasma level was measured using the LBP ELISA Kit for various species (Hycult Biotech, Netherland) following the manufacturer's instructions.

4.7 | Plasma myeloperoxidase (MPO), and cytokines and free fatty acid (FFA) release from adipocytes

Plasma MPO concentration was measured using a commercial ELISA Kit (R&D Systems).

At the end of the study, adipose tissue was collected and a known amount of each fat pad (subcutaneous and visceral) was placed in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) with antibiotics (50mg.ml⁻¹ gentamicin) or in KBEBs-Ringer's solution (pH=7.4). After overnight incubation at 37°C, 5% CO₂, samples were centrifuged and supernatants frozen at -80°C. Cytokines (KC and IL-6) secreted by tissues were quantified in these supernatants diluted in reagent diluent (1% BSA) using an ELISA Kit (R&D systems). FFA were analysed with a commercial kit (Wako Chemicals, Richmond, USA), according to the manufacturer's instructions.

4.8 | Microbiota composition analysis

Rat colons were transferred in ZR BashingBead™ Lysis Tubes (0.1 & 0.5 mm, Zymo Research) with lysis buffer (Maxwell® RSC Buffy Coat DNA) and homogenized using a Precellys homogeniser (2X 15 seconds followed by 2min rest). Lysis tubes were centrifuged at 14000g at 4°C for 3min, and supernatants were collected in new tubes and centrifuged again to ensure that all beads were removed. Then, the supernatant were dropped in cartridges in Maxwell® RSC Instrument (Promega) to extract DNA. DNA concentration was determined Qubit Fluorometric Quantitation (Invitrogen) and DNA quality was evaluated by spectrophotometry (260/280 and 260/230 ratios, Nanodrop). The variable regions V3-V4 of bacterial 16S rRNA genes were amplified from the purified DNA using the following primers: Forward CTTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCTACGG RAGGCAGCAG, and Reverse GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTTAC CAGGGTATCTAATCCT. All PCR amplifications were performed with MTP Taq DNA Polymerase and 10X MTP Taq Buffer (Sigma, D7442-1500U) and the following cycling conditions: 94 °C for 1min, followed by 30 cycles of 94 °C for 1min, 65

°C for 1min, and 72 °C for 1min, and a final elongation step at 72 °C for 10min. Illumina sequencing was performed in collaboration with the GeT core facility (Toulouse) and sequencing reads were analysed with the software package Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME). Reads from all samples were clustered at 97% sequence identity into operational taxonomic units (OTUs). OTUs with low counts (<0.1% of the total number of sequences per sample) were excluded. The number of taxa (α diversity) was measured using the Chao1 index. Species richness (β diversity) was determined by measuring the distance between communities, based on unweighted Unifrac from the OTU table to perform Principal coordinates analysis (PCoA).

4.9 | Faecal short-chain fatty acid (SCFA) concentration

Weighted faecal samples were reconstituted in 200 μ l Milli-Q® water, disrupted, incubated at 4°C for 2hs and centrifuged at 12000g at 4°C for 15min. Supernatants were weighted and saturated phosphotungstic acid solution was added (1g for 100 μ l). After overnight incubation at 4°C, samples were centrifuged again and SCFA concentrations were determined using gas chromatography (Nelson 1020,

Perkin-Elmer, St Quentin en Yvelines, France) as previously described ⁷¹. The ratios of acetate + butyrate to propionate $[(C2+C4)/C3]$ ⁷², acetate to butyrate + propionate $[C2/(C3+C4)]$ ⁷³ and acetate to butyrate (C2/C4) were calculated ⁴³.

4.10 | Protein extraction and western blotting

Adipose tissue (subcutaneous and visceral) and colon samples were homogenized in 500 μ l of lysis buffer (Tris 25mM, EDTA 1mM, EGTA 5mM, MgCl₂ 0.1mM, Glycérol 10%, NaCl 150mM, Nonidet P-40 1%, SDS 1%) supplemented with freshly added protease inhibitor cocktail (cOmplete™, Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail, Roche), Sodium Orthovanadate (1mM), PMSF (1mM) and N-Ethylmaleimide (5mM). Then, homogenates were centrifuged at 10 000g at 4°C for 5min. A small aliquot (20 μ l) was used for protein concentration with the DC Protein Assay (Bio-Rad, USA). The rest was frozen at -80°C until use.

Proteins were separated on 12% SDS-PAGE gels, transferred to nitrocellulose membranes, and blocked with 5% BSA in Tris buffered saline (pH 8) containing 0.05% Tween 20 (TBST) at room temperature under agitation for 1h. Then, membranes were incubated with diluted primary

antibodies against phospho-HSL (Cell Signaling Technology), occludin (1:500 dilution; 33-1500; Invitrogen) or ZO-1 (1:500 dilution; 61-7300; Invitrogen) at 4°C under agitation overnight. After three washes with TBST, membranes were incubated with secondary antibodies in TBST at room temperature under agitation for 1h. Antibody interactions were detected with the Enhanced Chemiluminescence Detection Kit (Amersham Biosciences, RPN2108) followed by the Bio-Rad ChemiDoc imaging system. Data for pHSP were normalised to total protein loading using the Stain-Free® Blot system (Bio-Rad, USA). ZO-1 and occludin protein contents were normalised to GAPDH expression. Band densities were analysed using Image J software.

4.11 | Quantitative Real-Time PCR

Total RNA was extracted from adipose tissues using TRIzol® (Invitrogen, Life Technologies) and was reverse transcribed using the High Capacity cDNA Transcription Kit (Applied Biosystems, Life Technologies). Expression of the genes encoding α AR and β AR was analysed with the SYBR Green qPCR Master Mix (applied biosystems) and a CFX Bio-Rad system. The fold-induction was calculated using the C_t method as follows: $\Delta\Delta C_t = (C_{t_{\text{target gene}}} - C_{t_{\text{housekeeping}}})$

$\text{gene})_{\text{treatment}} - (C_{t_{\text{target gene}}} - C_{t_{\text{housekeeping}}})_{\text{nontreatment}}$, and the final data were derived from $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

4.12 | Statistical Analysis

All statistical analyses were carried out using the Statistica software (version 12). Data were presented as the mean \pm standard error of the mean (SEM). The data normal distribution was tested using the Kolmogorov–Smirnov test and the homogeneity of variance from the F-test. A one-way ANOVA (group effect) or ANOVA with repeated measures was used to determine significances (time (T) and group (G) effects & G x T interactions), followed by a Newman–Keuls post-hoc test when a significant effect was found. Differences with a p value ≤ 0.05 were considered statistically significant.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the “Region Auvergne-Rhône-Alpes” (PREVAMIC project) and the I-SITE project (CAP 2025) of the University of Clermont Auvergne, by Inserm (U1071), INRA (USC-2018) and by grants from the Association F. Aupetit (AFA).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Organization WH. Fact sheet: Obesity and Overweight, 2016.
2. Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J. & Paquot, N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. (*Diabetes Res. Clin. Pract.*), 105, 141–150, 2014.
3. Pereira, S. S. & Alvarez-Leite, J. I. Low-Grade Inflammation, Obesity, and Diabetes. (*Curr. Obes. Rep.*), 3, 422–431, 2014.
4. Wajchenberg, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. (*Endocr. Rev.*), 21, 697–738, 2000.
5. Wronska, A. & Kmiec, Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. (*Acta Physiol. Oxf*), 205, 194–208, 2012.
6. Després, J.-P. & Lemieux, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. (*Nature*), 444, 881–887, 2006.
7. Everard, A. & Cani, P. D. Diabetes, obesity and gut microbiota. (*Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*), 27, 73–83, 2013.
8. Tang, W. H. W., Kitai, T. & Hazen, S. L. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. (*Circ. Res.*), 120, 1183–1196, 2017.
9. Turnbaugh, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. (*Nature*), 444, 1027–1031, 2006.
10. Claesson, M. J. et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. (*Nature*), 488, 178–184, 2012.
11. Murphy, E. F. et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. (*Gut*), 59, 1635–1642, 2010.
12. Chambers, E. S., Morrison, D. J. & Frost, G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? (*Proc. Nutr. Soc.*), 74, 328–336, 2015.
13. Kaji, I., Karaki, S. & Kuwahara, A. Short-chain fatty acid receptor and its contribution to glucagon-like peptide-1 release. (*Digestion*), 89, 31–36, 2014.
14. Gao, Z. et al. Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. (*Diabetes*), 58, 1509–1517, 2009.
15. Nakajima, A. et al. The short chain fatty acid receptor GPR43 regulates inflammatory signals in adipose tissue M2-type macrophages. (*PLoS One*), 12, e0179696, 2017.
16. Cani, P. D. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. (*Diabetes*), 56, 1761–1772, 2007.
17. Hersoug, L.-G., Møller, P. & Loft, S. Gut microbiota-derived lipopolysaccharide uptake and trafficking to adipose tissue: implications for inflammation and obesity. (*Obes. Rev.*), 17, 297–312, 2016.
18. Johns, D. J., Hartmann-Boyce, J., Jebb, S. A., Aveyard, P. & Behavioural Weight Management Review Group. Diet or exercise interventions vs combined behavioral weight management programs: a systematic review and meta-analysis of direct comparisons. (*J. Acad. Nutr. Diet.*), 114, 1557–1568, 2014.
19. Shaw, K., Gennat, H., O'Rourke, P. & Del Mar, C. Exercise for overweight or obesity. (*Cochrane Database Syst. Rev.*), CD003817, 2006.
20. Wu, T., Gao, X., Chen, M. & van Dam, R. M. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. (*Obes. Rev.*), 10, 313–323, 2009.

21. Boutcher, S. H. High-intensity intermittent exercise and fat loss. (*J. Obes.*), 868305, 2011.
22. Maillard, F., Pereira, B. & Boisseau, N. Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis. (*Sports Med. Auckl. NZ.*), 48, 269–288, 2018.
23. Allen, J. M. et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. (*Med. Sci. Sports Exerc.*), 2017.
24. Lamoureux, E. V., Grandy, S. A. & Langille, M. G. I. Moderate Exercise Has Limited but Distinguishable Effects on the Mouse Microbiome. (*mSystems* 2), 2017.
25. Lambert, J. E. et al. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. (*Appl. Physiol. Nutr.*), 40, 749–752, 2015.
26. Petriz, B. A. et al. Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. (*BMC Genomics*), 15, 511, 2014.
27. Kang, S. S. et al. Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. (*Mol. Neurodegener.*), 9, 36, 2014.
28. Liu, Z. et al. Moderate-Intensity Exercise Affects Gut Microbiome Composition and Influences Cardiac Function in Myocardial Infarction Mice. (*Front. Microbiol.*), 8, 1687, 2017.
29. Liu, W.-X. et al. Voluntary exercise prevents colonic inflammation in high-fat diet-induced obese mice by up-regulating PPAR- γ activity. (*Biochem. Biophys. Res. Commun.*), 459, 475–480, 2015.
30. Evans, C. C. et al. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. (*PLoS One*), 9, e92193, 2014.
31. Mika, A. et al. Exercise is More Effective at Altering Gut Microbial Composition and Producing Stable Changes in Lean Mass in Juvenile versus Adult Male F344 Rats. (*PLoS One*), 10, e0125889, 2015.
32. Batacan, R. B., Duncan, M. J., Dalbo, V. J., Tucker, P. S. & Fenning, A. S. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. (*Br. J. Sports Med.*), 51, 494–503, 2017.
33. Denou, E., Marcinko, K., Surette, M. G., Steinberg, G. R. & Schertzer, J. D. High-intensity exercise training increases the diversity and metabolic capacity of the mouse distal gut microbiota during diet-induced obesity. (*Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*), 310, E982–993, 2016.
34. Kim, K. E. et al. Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels as a biomarker of obesity-related insulin resistance in adolescents. (*Korean J. Pediatr.*), 59, 231–238, 2016.
35. Moreno-Navarrete, J. M. et al. Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. (*Int. J. Obes.*) 2005 36, 1442–1449, 2012.
36. González-Sarrías, A. et al. The Endotoxemia Marker Lipopolysaccharide-Binding Protein is Reduced in Overweight-Obese Subjects Consuming Pomegranate Extract by Modulating the Gut Microbiota: A Randomized Clinical Trial. (*Mol. Nutr. Food Res.*) e1800160, 2018.
37. Maillard, F. et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. (*Diabetes Metab.*), 42, 433–441, 2016.

38. Zhang, H. et al. Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: A randomized controlled trial. (*Kinesiology*), 47, 57–66, 2015.
39. Wang, N., Liu, Y., Ma, Y. & Wen, D. High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. (*Life Sci.*), 191, 122–131, 2017.
40. Shen, Y., Xu, X., Yue, K. & Xu, G. Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. (*Obes. Silver Spring*), 1000–1006, 2015.
41. Kapravelou, G. et al. Aerobic interval exercise improves parameters of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and other alterations of metabolic syndrome in obese Zucker rats. (*Appl. Physiol. Nutr. Metab.*), 40, 1242–1252, 2015.
42. Queipo-Ortuño, M. I. et al. Gut Microbiota Composition in Male Rat Models under Different Nutritional Status and Physical Activity and Its Association with Serum Leptin and Ghrelin Levels. (*PLoS ONE*), 8, 2013.
43. Allen, J. M. et al. Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. (*Gut Microbes*), 0, 2017).
44. Lee, J. R. et al. Sex determines effect of physical activity on diet preference: Association of striatal opioids and gut microbiota composition. (*Behav. Brain Res.*), 334, 16–25, 2017.
45. Codling, C., O'Mahony, L., Shanahan, F., Quigley, E. M. M. & Marchesi, J. R. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. (*Dig. Dis. Sci.*), 55, 392–397, 2010.
46. Parthasarathy, G. et al. Relationship Between Microbiota of the Colonic Mucosa vs Feces and Symptoms, Colonic Transit, and Methane Production in Female Patients With Chronic Constipation. (*Gastroenterology*), 150, 367–379.e1, 2016.
47. Yang, Y. et al. The Association between Cardiorespiratory Fitness and Gut Microbiota Composition in Premenopausal Women. (*Nutrients*), 9, 2017.
48. Cronin, O. et al. Gut microbiota: implications for sports and exercise medicine. (*Br. J. Sports Med.*), 51, 700–701, 2017.
49. Ferraris, R. P. & Vinnakota, R. R. Intestinal nutrient transport in genetically obese mice. (*Am. J. Clin. Nutr.*), 62, 540–546, 1995.
50. Haglund, U. Gut ischaemia. (*Gut*), 35, S73-76, 1994.
51. de Oliveira, E. P. & Burini, R. C. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. (*Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*), 12, 533–538, 2009.
52. Jeukendrup, A. E. Training the Gut for Athletes. (*Sports Med. Auckl. NZ*), 47, 101–110, 2017.
53. Holland, A. M. et al. Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. (*BMC Res*), Notes 8, 514, 2015.

54. Bruun, J. M., Verdich, C., Toubro, S., Astrup, A. & Richelsen, B. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men. (*Eur. J. Endocrinol.*), 148, 535–542, 2003.
55. Neels, J. G., Badianlou, L., Hester, K. D. & Samad, F. Keratinocyte-derived Chemokine in Obesity. (*J. Biol. Chem.*), 284, 20692–20698, 2009.
56. Olza, J. et al. Myeloperoxidase is an early biomarker of inflammation and cardiovascular risk in prepubertal obese children. (*Diabetes Care*), 35, 2373–2376, 2012.
57. Cani, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. (*Diabetes*), 57, 1470–1481, 2008.
58. Saghafi-Asl, M., Amiri, P., Naghizadeh, M., Ghavami, S. M. & Karamzad, N. Association of endotoxaemia with serum free fatty acids in metabolically healthy and unhealthy abdominally obese individuals: a case-control study in northwest of Iran. (*BMJ Open*), 7, e015910, 2017.
59. Oliveira, A. G. et al. Physical Exercise Reduces Circulating Lipopolysaccharide and TLR4 Activation and Improves Insulin Signaling in Tissues of DIO Rats. (*Diabetes*), 60, 784–796, 2011.
60. Rebuffé-Scrive, M., Andersson, B., Olbe, L. & Björntorp, P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. (*Metabolism.*), 38, 453–458, 1989.
61. Trapp, E. G., Chisholm, D. J. & Boutcher, S. H. Metabolic response of trained and untrained women during high-intensity intermittent cycle exercise. (*Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*), 293, R2370–2375, 2007.
62. Moro, C. et al. Training enhances ANP lipid-mobilizing action in adipose tissue of overweight men. (*Med. Sci. Sports Exerc.*), 37, 1126–1132, 2005.
63. Richterova, B. et al. Effect of endurance training on adrenergic control of lipolysis in adipose tissue of obese women. (*J. Clin. Endocrinol. Metab.*), 89, 1325–1331, 2004.
64. Schweiger, M. et al. Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism. (*J. Biol. Chem.*), 281, 40236–40241, 2006.
65. Zimmermann, R. et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. (*Science*), 306, 1383–1386, 2004.
66. Zechner, R. et al. FAT SIGNALS - Lipases and Lipolysis in Lipid Metabolism and Signaling. (*Cell Metab.*), 15, 279–291, 2012.
67. Tjønnå, A. E. et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. (*Circulation*), 118, 346–354, 2008.
68. Metz, L. et al. Endurance training increases lactate transport in male Zucker fa/fa rats. (*Biochem. Biophys. Res. Commun.*), 331, 1338–1345, 2005.
69. Haram, P. M. et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. (*Cardiovasc. Res.*), 81, 723–732, 2009.

70. Matthews, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. (*Diabetologia*), 28, 412–419, 1985.
71. Lan, A. et al. Increased induction of apoptosis by *Propionibacterium freudenreichii* TL133 in colonic mucosal crypts of human microbiota-associated rats treated with 1,2-dimethylhydrazine. (*Br. J. Nutr.*), 100, 1251–1259, 2008.
72. Goachet, A.-G., Varloud, M., Philippeau, C. & Julliand, V. Long-term effects of endurance training on total tract apparent digestibility, total mean retention time and faecal microbial ecosystem in competing Arabian horses. (*Equine Vet. J. Suppl.*), 387–392, 2010
73. Nishitsuji, K. et al. Analysis of the gut microbiome and plasma short-chain fatty acid profiles in a spontaneous mouse model of metabolic syndrome. (*Sci. Rep.*), 7, 2017.

Résultats complémentaires publication n°1

Cette étude visait à comparer les programmes HIIT et MICT sur la perte de masse grasse totale et viscéral dans un modèle génétique de rats obèses (Zucker) et de déterminer si la modulation du microbiote intestinal pouvait être corrélée à ces réductions du tissu adipeux.

Cette étude confirme, dans un modèle d'obésité, que le HIIT est plus efficace que le MICT pour diminuer la masse grasse totale et viscérale. Cependant, contrairement à nos hypothèses, le microbiote intestinal n'était pas modifié par l'entraînement et ne pouvait donc pas être corrélé à cette perte de masse grasse. Toutefois, nous avons montré que seul l'entraînement de type HIIT augmente le rapport des récepteurs adrénérgiques en faveur d'une activité anti-lipolytique dans le tissu adipeux sous-cutané uniquement. Si le HIIT, comparé au MICT, augmentait davantage le contenu des protéines de jonctions serrées, aucun effet de la modalité n'a été trouvé concernant la réduction de l'endotoxémie induite par l'exercice (LPB). Les deux entraînements ont réduit l'inflammation (au niveau systémique et adipeux) et amélioré le métabolisme du glucose. Ces adaptations sont observées dans le groupe HIIT malgré le fait que les rats ont moins couru et ont effectué une distance plus faible par rapport au groupe MICT, mettant en évidence le caractère « time-efficient » de cette modalité.

⇒ Effets de différentes modalités d'exercice sur la composition corporelle

Pour ce travail nous avons en plus du tissu adipeux viscéral récolté et pesé le tissu adipeux sous-cutané, péri-rénal et mésentérique. Aucun de ces tissus adipeux supplémentaires ainsi que le % de tissu adipeux viscéral (somme du tissu adipeux épидидymal, péri-rénal et mésentérique) n'était différent n'entre les groupes (Tableau 17). Etant donné que le tissu adipeux épидидymal est le plus étudié dans un contexte d'obésité par rapport aux autres tissus viscéraux (Chusyd et al., 2016), nous avons choisi de le prendre comme référence du tissu adipeux viscéral.

Tableau 17 : Pesée des différents tissus adipeux, pour les groupes CONT (n=12), MICT (n=12) et HIIT (n=12).

	TA mésentérique	TA péri-rénal	TA épididymal	Total TA viscéral	% TA viscéral	TA sous-cutané
HIIT	5.4 ± 0.4	11.7 ± 0.7	8.6 ± 0.4	25.7 ± 1.3	33.4 ± 1.6	53.0 ± 4.4
MICT	5.7 ± 0.3	13.2 ± 0.7	9.7 ± 0.4	28.5 ± 1.2	34.1 ± 0.9	55.2 ± 2.5
CONT	5.7 ± 0.4	11.5 ± 0.8	11.1 ± 1.1	28.4 ± 1.7	34.9 ± 1.3	53.4 ± 3.7

⇒ Effets de différentes modalités d'exercice sur le microbiote intestinal

L'entraînement, quelle que soit la modalité, n'impacte ni la quantité de bactéries (α -diversité), ni leur fonction (β diversité). Toutefois, nous avons tout de même regardé si certains genres pouvaient être impactés indépendamment des indices de diversité. Le DEseq2, un indice initialement développé pour l'étude du RNAseq, est adapté à l'analyse du microbiote intestinal, il permet d'extraire plus de taxon. Même s'il semble y avoir des différences entre les groupes, ces changements sont trop faibles pour être interprétés. En effet, lorsque l'abondance d'un genre est inférieure à 1%, les données ne sont pas fiables (Figure 27).

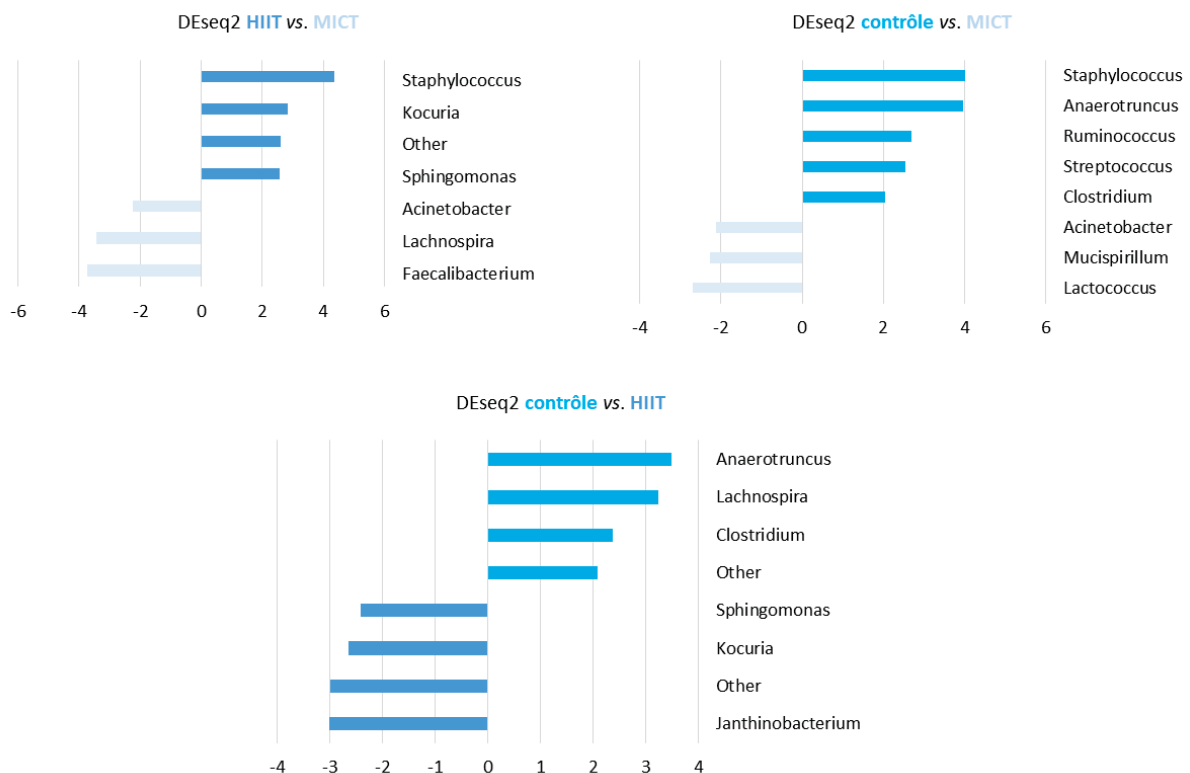


Figure 27 : DEseq2, pour les groupes CONT (n=11), MICT (n=11) et HIIT (n=12).

A partir de ce constat, nous avons testé si cette absence de modification du microbiote intestinal pouvait être expliquée par le caractère « répondeur » ou « non répondeur » à l'activité physique. Dans ce but, nous avons refait les mêmes analyses mais en séparant les groupes soit en fonction de la perte de masse grasse totale, soit en fonction de la perte de masse grasse viscérale. La séparation des groupes a été réalisée en utilisant la médiane. Malheureusement, cette nouvelle analyse n'a révélé aucune différence entre les groupes étudiés.

Cette absence de modification du microbiote peut être expliquée par une forte résilience ou résistance de ce modèle. L'analyse du microbiote intestinal dans les fèces à différents temps durant le protocole aurait permis de lever cette interrogation.

⇒ Effets de différentes modalités d'exercice sur la voie de la lipolyse et l'angiogénèse

Etant donné que notre hypothèse principale impliquant le microbiote intestinal pour expliquer la perte de masse grasse viscérale avec le HIIT n'a pu être vérifiée, nous avons regardé les acteurs importants de la lipolyse (le contenu protéiques récepteurs adrénérergiques et le niveau de lipase hormono-sensible phosphorylé). Comme présenté dans notre publication, le rapport des récepteurs adrénérergiques α/β est augmenté dans le groupe HIIT dans le tissu adipeux sous-cutané uniquement et aucun effet n'est observé concernant la LHS-p. Pour cette étude, nous avons prévu de réaliser des incubations de tissu adipeux en vue de les stimuler avec des catécholamines (noradrénaline et adrénaline) et l'insuline afin de juger des effets anti-et pro lipolytiques. Malheureusement, les mises au point n'ont pas été concluantes. En parallèle, nous avons également regardé l'effet de ces différentes modalités d'exercice sur les récepteurs aux estrogènes, ER- α étant reconnu pour ses propriétés bénéfiques sur le métabolisme énergétique et ER- β possédant des effets opposés. Même si l'effet bénéfique des estrogènes sur la composition corporelle n'est plus à démontrer, leur impact sur la lipolyse est controversé. Certains travaux montrent un rôle indirect sur la lipolyse, via le récepteur aux estrogènes α , en stimulant l'expression et la sensibilité des récepteurs β -adrénérergiques (Benoit et al., 1982), en augmentant l'expression de la lipase hormono-sensible (Palin et al., 2003), ainsi qu'en favorisant l'activité de la perilipine A (Tansey et al., 2004), de plus certaines études ont montré que cette hormone pourrait induire directement la lipolyse via AMPc (Mayes et Watson, 2004). A l'opposé, certaines études ont mis en avant l'effet anti-lipolytique des estrogènes. Pour exemple, Pedersen et al. ont montré

que l'estradiol augmentait l'expression des récepteurs adrénérgiques α (anti-lipolytiques) uniquement dans le tissu adipeux sous-cutané préservant ainsi l'accroissement du tissu adipeux viscéral (Pedersen et al., 2004). Dans notre étude, seul l'entraînement de type MICT augmente la quantité d'ER- α dans le tissu adipeux épидидymal (Figure 28a). Aucun effet n'est à noter concernant ER- β ou le ratio ER- α / ER- β (Figures 28 b et c). Ce résultat est en accord avec une précédente étude du laboratoire ayant montré une augmentation de ER- α dans le tissu adipeux épидидymal de rats Wistar soumis à un entraînement en endurance (Metz et al., 2016). Même si nous n'avons pas établi de lien entre les récepteurs aux estrogènes et l'entraînement de type HIIT, ce résultat confirme la spécificité des réponses pour chaque modalité d'exercice (MICT et HIIT).

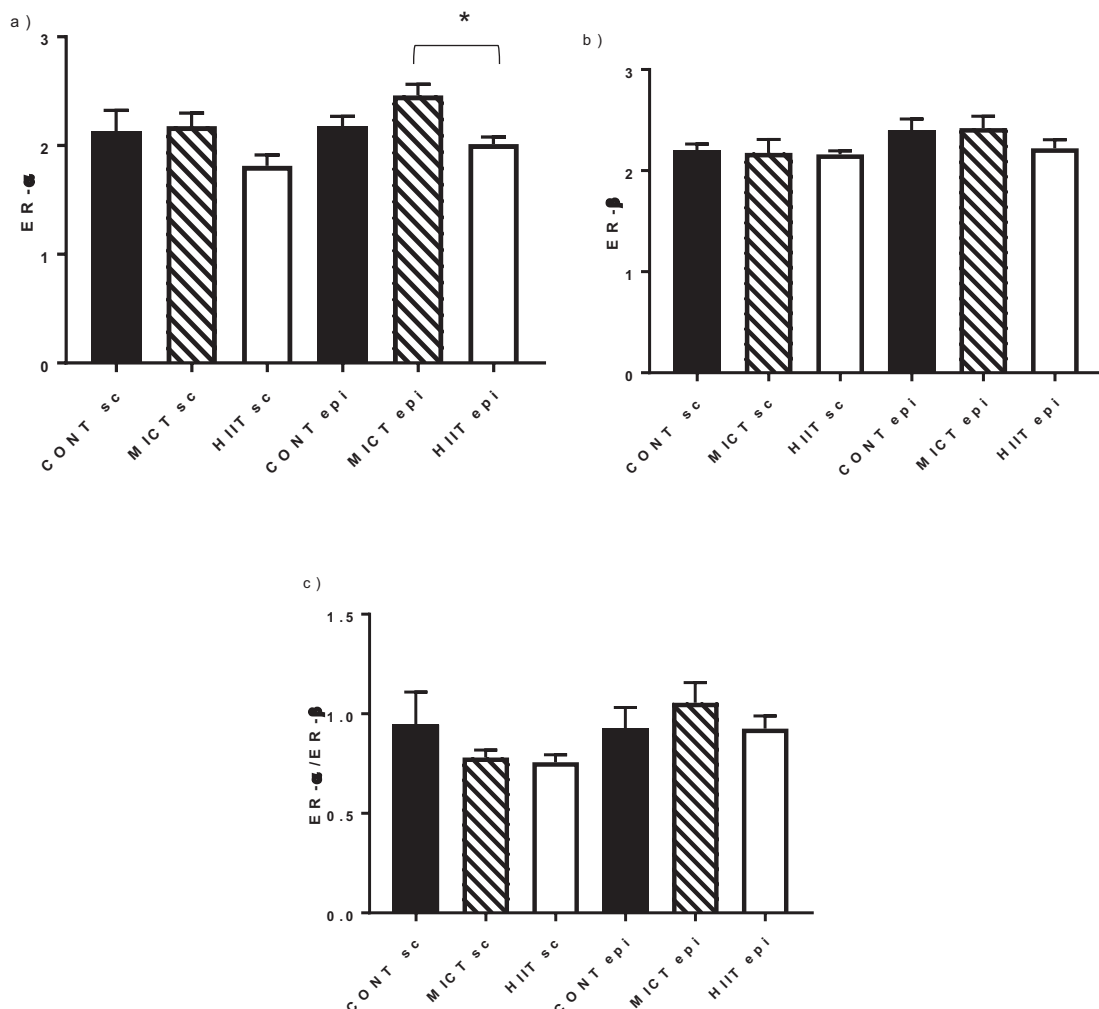


Figure 28 : Quantité du récepteur aux estrogènes α (a) et β (b) ainsi que leur rapport dans le tissu adipeux déterminé par western-blot, pour les groupes contrôle (n=8), MICT (n=8) et HIIT (n=8).

Nous également avons également regardé un autre mécanisme fortement impliqué dans le développement du tissu adipeux, l'angiogénèse (Christiaens et Lijnen, 2010). Des études ont montré que des composés anti-angiogéniques réduisaient la masse grasse viscérale chez des animaux souffrants d'obésité génétique (Yoon et Kim, 2011) ou pouvait prévenir de la prise de masse grasse totale suite à un régime HF (Lee et al., 2013). Dans ce contexte, nous avons analysé l'expression de VEGF, le facteur clé de l'angiogénèse, par qPCR dans le tissu adipeux viscéral et sous-cutané. Les deux entraînements (MICT et HIIT) diminuent l'expression de VEGF dans le tissu adipeux viscéral (Figure 29). A partir de ce résultat, nous n'avons pas continué les investigations concernant l'angiogénèse.

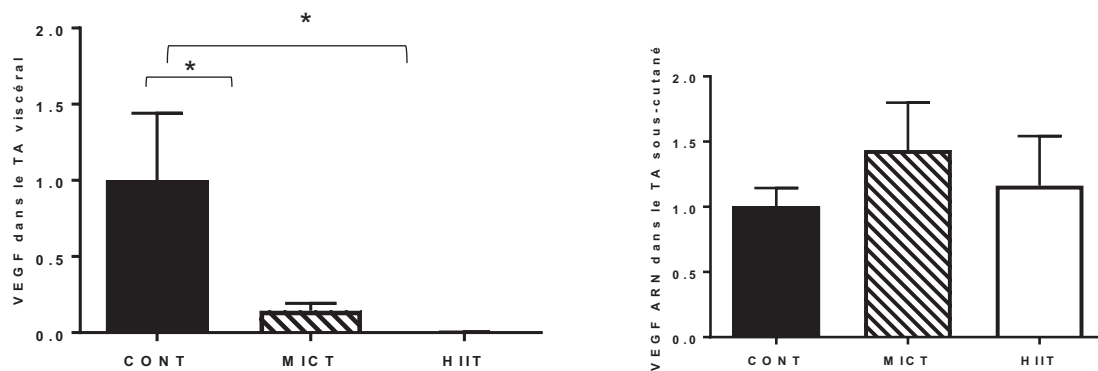


Figure 29 : Expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), pour les groupes contrôle (n=10), MICT (n=9) et HIIT (n=8).

Comme expliqué en discussion de cette article et au vu des données de la littérature, il serait intéressant de regarder la lipogénèse via le contenu et l'activité la lipoprotéine lipase et l'enzyme clé de cette voie, la FAS.

⇒ Effets de différentes modalités d'exercice sur l'inflammation systémique et tissulaire (colon et tissu adipeux)

Dans notre publication, nous avons montré que l'inflammation systémique était améliorée via la diminution de la myeloperoxydase (MPO) et du LBP. Nous avons testé un large panel de cytokines pro (TNF- α , IL-6, KC, IL-1 β) et anti-inflammatoires (IL-10 et IL-1RA) dans le plasma des rats, mais aucune n'a été détectée. Le même problème a été rencontré par une chercheuse du laboratoire AME2P travaillant sur le rat Zucker. Concernant le tissu adipeux, en plus de KC et IL-6, nous avons également essayé analyser de nombreuses cytokines (IL-10, IL-

1RA, IL-22, TGF- β 1, TNF- α , MCP-1, MPO et IL-1 β) sans succès. Au niveau du colon, parmi les cytokines détectées IL-6 et KC ne sont pas modifiées par l'entraînement (Figure 30 a et b).

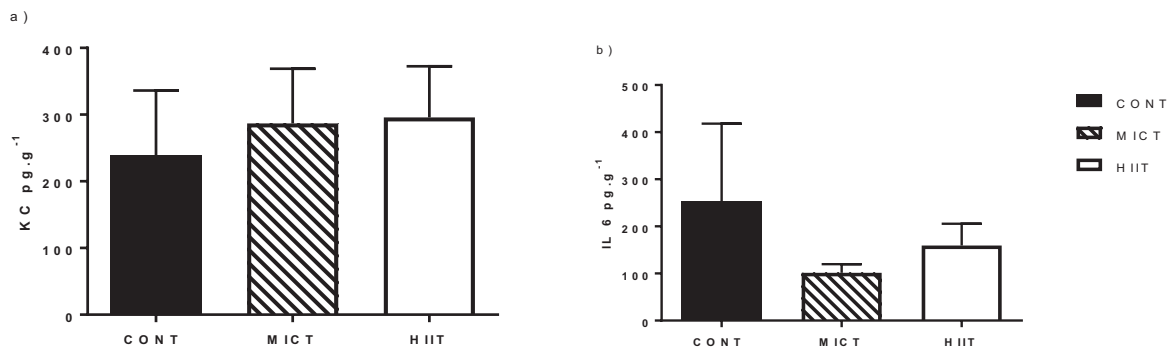


Figure 30 : Cytokines KC (a) et IL-6 (b) secrétées par le colon, pour les groupes contrôle (n=12), MICT (n=12) et HIIT (n=12).

Nous avons également réalisé des coupes histologiques de colon au laboratoire afin de les envoyer à ONIRIS pour que des pathologistes réalisent une analyse morphométrique (profondeur des cryptes). Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les groupes (Figure 31).

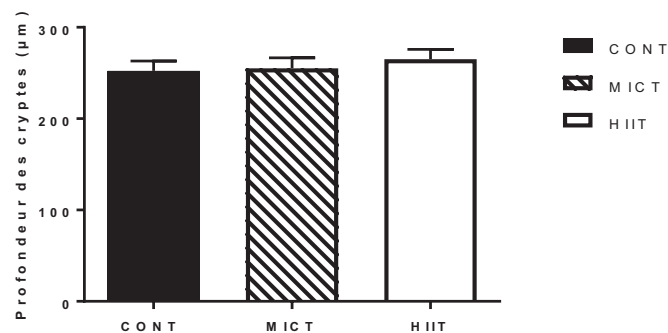


Figure 31 : Profondeur des cryptes, pour les groupes contrôle (n=5), MICT (n=5) et HIIT (n=5).

A partir de coupes de colon, nous avons également essayé de faire un immuno-marquage des protéines des jonctions serrées (ZO-1, occludine et claudine-2) afin d'étudier leur localisation. Malheureusement, les lames n'étaient pas exploitables et nous nous sommes orientés vers la technique du western blot afin d'évaluer leur quantité.

La lipocaline-2, un bio-marqueur de l'inflammation intestinale et métabolique (Moschen et al., 2017), a été analysé chaque semaine dans les fèces des rats. Aucune différence n'est à noter entre les groupes quelle que soit la semaine étudiée (Figure 32).

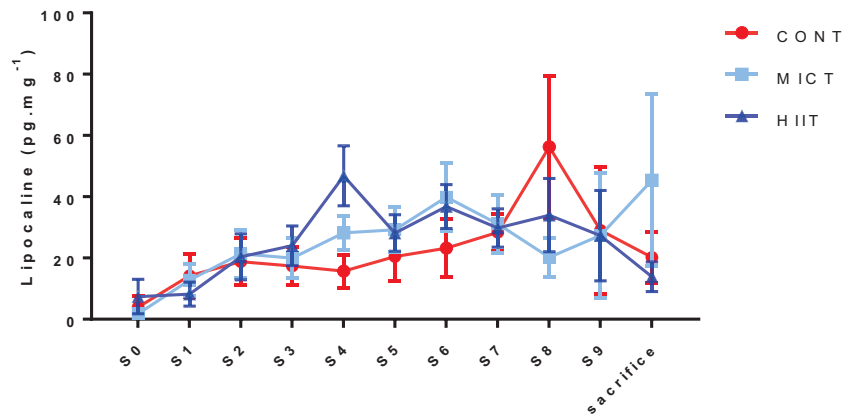


Figure 32 : Suivi de la lipocaline fécale, pour les groupes contrôle (n=12), MICT (n=12) et HIIT (n=12).

⇒ Effets de différentes modalités d'exercice sur le stress oxydant

Le stress oxydant étant majoré dans un contexte d'obésité (Furukawa et al., 2004) et pouvant être amélioré via l'activité physique (Carraro et al., 2018; Koloveryou et al., 2018), en collaboration avec les laboratoires LIBM (Université Claude Bernard, Lyon 1) et M2S (Université Rennes 2), nous avons exploré l'effet des différentes modalités d'exercice sur le statut pro-anti oxydant au niveau systémique, musculaire (gastrocnemius), et du tissu adipeux (viscéral et sous-cutané). Les résultats de cette étude annexe ont montré que les deux modalités exerçaient un effet bénéfique sur le statut oxydatif et façon tissu dépendant. Les deux types d'entraînement sont capables de réguler à la hausse l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le muscle et de réduire le contenu en MPO. Toutefois, l'HIIT est préférable au MICT pour améliorer l'état pro/antioxydant dans le muscle, tissu où les espèces réactives de l'oxygène sont principalement produites. Le MICT est quant à lui plus efficace pour améliorer l'état pro / antioxydant dans le tissu adipeux. Ainsi, en pratique, chaque modalité d'entraînement est susceptible de améliorer le statut pro / antioxydant mais les adaptations semblent tissu-spécifiques. Ce travail exposé en annexe sera soumis dans le « Acta physiologica » avant septembre 2018.

Publication n°2

Preventive effect of spontaneous physical activity on the gut-adipose tissue in a mouse model that mimics Crohn's disease susceptibility

F. Maillard^{1,2}, E. Vazeille^{2,3}, P. Sauvanet^{2,4}, P. Sirvent¹, R. Bonnet^{2,5}, L. Combaret⁶, P. Chausse⁷, C. Chevarin², Y. F. Otero¹, G. Delcros¹, V. Chavanelle¹, N. Boisseau¹ & N. Barnich^{2#}

¹ Université Clermont Auvergne, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

² UMR 1071 Inserm/Université Clermont Auvergne; USC-INRA 2018, Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte (M2iSH), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

³ Université Clermont Auvergne, Inserm, 3iHP, CHU Clermont-Ferrand, Service d'Hépatogastro-Entérologie, Clermont-Ferrand, France.

⁴ Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Service de chirurgie digestive, Clermont-Ferrand, France

⁵ Department of Bacteriology, CHU Clermont-Ferrand, 63000 Clermont-Ferrand, France.

⁶ Université Clermont Auvergne, INRA, UNH, Unité de Nutrition Humaine, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

⁷ Université Clermont Auvergne, Laboratoire de Psychologie Sociale et Cognitive (LAPSCO), Centre National de la Recherche Scientifique, Clermont-Ferrand, France.

ABSTRACT

Objective: Crohn's disease is characterized by abnormal ileal colonization by adherent-invasive *E. coli* (AIEC) and expansion of mesenteric adipose tissue. This study assessed the preventive effect of spontaneous physical activity on the gut-adipose tissue in mouse model that mimics Crohn's disease susceptibility (CEABAC10 mice exposed to AIEC bacteria).

Design: Thirty five CEABAC10 male mice performed spontaneous PA (wheel group; n=24) or not (controls; n= 11) for 12 weeks. The speed and distance covered on the wheel were recorded continuously. At week 12, mice were orally challenged with the AIEC LF82 strain for 6 days. Body composition, glycaemic control, intestinal permeability, gut microbiota composition and faecal short-chain fatty acids were assessed in both groups. Animal were fed a high fat/high sugar diet (Western diet) throughout the study.

Results: At week 12, total fat mass was lower in the wheel group than in controls ($p < 0.05$). Distance and speed values were positively associated with lower fasting glucose and higher glucose tolerance ($p < 0.05$). After exposure to AIEC, mesenteric adipose tissue weight was lower in the wheel group. Tight junction protein expression increased with spontaneous physical activity, whereas systemic lipopolysaccharides were negatively correlated with the covered distance. *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* decreased in controls, whereas *Oscillospira* and *Ruminococcus* increased in the wheel group. Faecal propionate and butyrate also were higher in the wheel group ($p < 0.05$).

Conclusion: Spontaneous physical activity promotes healthy gut microbiota composition changes and short-chain fatty acids increase in CEABAC10 mice fed a Western diet and exposed to AIEC to mimic Crohn's disease.

KEYWORDS: Physical activity, mesenteric adipose tissue and Crohn's disease.

SIGNIFICANCE OF THIS STUDY

What is already known on this subject?

- Expansion of mesenteric (visceral) adipose tissue is a hallmark of Crohn's disease (CD).
- Dysbiosis has been observed in many patients with CD.
- Abnormal carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (CEACAM6) expression allows adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) bacteria to colonize the ileal mucosa of patients with CD, triggering inflammation.
- Western diet is a risk factor for CD development and alters gut microbiota composition and function.
- Physical activity (PA) influences favourably gut microbiota composition.
- PA decreases visceral fat mass in an exercise modality-dependent manner.

What are the new findings?

In a genetic mouse model of CD exposed to two environmental CD risk factors (high fat/high sugar diet and AIEC bacteria):

- PA prevents mesenteric adipose tissue expansion
- PA favourably influences gut microbiota composition and function (short-chain fatty acid production)
- Covered distance and speed during PA have different effects
 - Speed improves fat-free mass and glucose metabolism
 - Distance decreases fat mass expansion and systemic lipopolysaccharides levels

How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?

- These results obtained in a rodent model must be confirmed in patients with CD in clinical protocols.
- If confirmed, PA could then be proposed to patients with CD to improve their quality of life.

INTRODUCTION

Crohn's disease (CD) is a chronic inflammatory bowel disease resulting from an aberrant immune response to intestinal microbiota stimulation in genetically predisposed individuals and/or under the influence of various environmental factors [1]. Patients with CD are characterized by α -diversity reduction [2] and dysbiosis, illustrated by the decrease of *Firmicutes* associated with the increase of *Bacteroidetes* and *Proteobacteria* [3]. Specifically, the microbiota of patients with CD shows a reduction in short chain fatty acid (SCFA)-producing species, such as *Faecalibacterium prausnitzii*, *Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus torques*, *Clostridium lavalense* and *Bacteroides uniformis*, known for their anti-inflammatory and immune properties [3,4], and an increase of specific pathogenic *E. coli* strains, called adherent-invasive *E. coli* (AIEC) [5,6]. AIEC strains are strongly involved in CD aetiology and bind to mannosylated carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (CEACAM6), which is abnormally expressed on the surface of enterocytes in CD patients, leading to induction of intestinal inflammation [7]. Interestingly, in humanized transgenic CEABAC10 mice that express human CEACAM6, the AIEC

reference strain LF82 colonizes and induces intestinal mucosa inflammation [8]. In these mice, Western diet favours the host over-colonization by *E. coli* and AIEC strains [9]. Successful gut colonization by AIEC leads to the release of higher amounts of TNF- α , which aggravates inflammation [10,11]. Thus, transgenic CEABAC10 mice fed a Western diet and challenged with AIEC bacteria represent an original model to mimic CD susceptibility.

Although CD patients have generally a low or normal body mass index, the ratio of visceral adipose or abdominal subcutaneous adipose tissue to total adipose tissue is significantly higher compared with healthy controls [12,13]. In 1932, Dr Burill Crohn described a significant presence of fat around the gut in these patients [14]. This expansion of mesenteric adipose tissue (visceral adipose tissue) can cover up to 50% of the diameter of the small intestine and colon in patients with CD [15]. These ectopic deposits are named "creeping fat" or "wrapping fat". Visceral adipose tissue is an important producer of pro-inflammatory cytokines and chemokines (such as IL-6, TNF- α and MCP-1) that contribute to the systemic and intestinal inflammation [16,17]. Thus, adipose tissue is recognized as one of CD

features [18], suggesting a cross-talk between adipose tissue, gut and microbiota. Indeed, gut dysbiosis contributes to impair intestinal permeability, favouring bacterial translocation [19]. This mechanism could explain the mesenteric adipose tissue expansion in CD [20–22]. For example, *Enterococcus faecalis* induces adipocyte proliferation and reduces lipid adipocyte content by 20% [23]. Moreover, the presence of bacteria in mesenteric adipose tissue of CD patients can stimulate the activity of PPAR- γ that is overexpressed in visceral adipose tissue and is strongly involved in adipogenesis regulation [17].

Currently, the immunosuppressive or biological treatments used in CD are not curative and have many side effects. In this context, physical activity (PA) could be an attractive alternative and/or a complementary therapy due to its anti-inflammatory effects and capacity to decrease adipose tissue (including visceral fat mass). Several epidemiological studies have demonstrated a link between PA and reduced risk of developing CD [24]. Many studies in animal models of intestinal inflammation have highlighted the anti-inflammatory effect of voluntary exercise (*i.e.*, using PA wheels). Specifically, PA

prevents chemically-induced inflammation [25–28], intestinal injury following bacterial infection and/or exposure to bacterial components [29], and intestinal damage caused by high-fat diet [26,30,31]. Gut microbiota can play a major role in these adaptations, and PA could be an original way to restore normobiosis in the context of chronic diseases. Indeed, changes in gut microbiota through PA may counteract the high-fat diet adverse effects [30] and induce protection following chemically-induced inflammation [25]. However, the effects of PA on the microbiota-adipose tissue cross-talk remain to be elucidated. Therefore, the aim of this study was to analyse the preventive effect of chronic exercise on this cross-talk in CEABAC10 mice fed a HF/HS diet. We hypothesized that spontaneous PA could (1) reduce total fat and visceral fat mass deposits, and (2) promote favourable changes in the intestinal microbiota.

MATERIAL AND METHODS

Animals

FVB/N females and heterozygous CEABAC10 transgenic males (Charles River Laboratories) were mated in specific pathogen-free conditions in the animal care facility of the Université Clermont Auvergne (Clermont-Ferrand, France). At 4–5 weeks of age, animals were weaned and genotyped. Eight-week-old CEABAC10 males (n=35) were selected and randomly assigned to two groups: spontaneous PA on a wheel (wheel group; n=24) and controls (n=11). Animals were housed in individual cages with a reversed light-dark cycle in a temperature-controlled room (21°C). All animal procedures were approved by the local ethics committee (APAFIS 3075-2015120813375547).

Spontaneous physical activity

Mice in the wheel group (n=24) could perform spontaneous PA on the wheel in their individually cage. To measure the covered distance and speed, the wheels were equipped with a magnet and a sensor connected to a microcontroller digital input-output card (PIC18 4550 MICROCHIP). This card was programmed specifically for this use and allowed

recording each passage of the magnet in front of the sensor. The information was send back to a computer for processing and storage using a specific program written in G language (LABVIEW National Instrument). Data analysis with the labChart version 7 software allowed calculating the travelled distance (km) and the speed (m.min⁻¹). Exercise was recorded continuously and cages were visually checked at least 4 times/week.

Study design

During the entire study, both groups were fed a HF/HS diet (13.1% of proteins, 60.6% of lipids and 26.3% of carbohydrates, primarily sucrose) (purified Diet 230 HF; Safe Diets, France), as a paradigm of Western diet. The diet contained high levels of fat and simple sugars with an energy intake of 5317 kcal·kg⁻¹ and a fibre content of 0.017%. As spontaneous PA can increase food intake [32], pair-feeding with controls was performed to ensure that the two groups consumed the same food quantity. After 12 weeks of HF/HS diet, all mice were orally challenged with the AIEC LF82 strain (10⁹ bacteria), isolated from a patient with CD, for 6 consecutive days. Ten days after the first AIEC bolus, mice were sacrificed by decapitation (**Figure 1**).

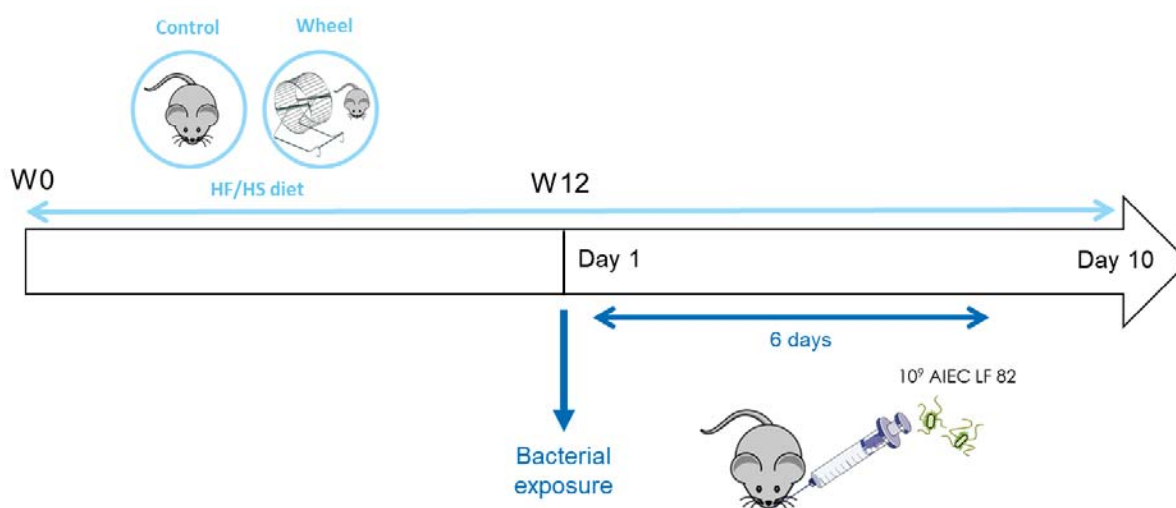


Figure 1: Study protocol. Eight-week-old mice were subdivided in two groups: animals that did spontaneous physical exercise on a wheel (n=24) and controls (n=11). The covered distance and speed in the wheel group were recorded continuously. At week 12 (W12), both groups were exposed to AIEC LF82 for 6 days and were sacrificed 4 days later. Animals were fed a high fat/high sugar diet (HF/HS) throughout the study and during the first twelve weeks pair-feeding was performed.

Weight and body composition

Weight was recorded weekly for 12 weeks (W0 to W12) and every day during bacterial exposure. Body composition was measured using the EchoMRI 3-in-1 instrument (Echo Medical Systems, Houston, TX) at W0, W6, and W12 before bacterial exposure. Mesenteric fat pads were weighted *post-mortem*.

Oral glucose tolerance test (OGTT) and plasma measurements

OGTTs were performed after 6h fasting at W0 and at W12 before bacterial exposure. Tail blood samples were taken at 0, 15, 30, 60, 90 and 120 min after oral gavage of

glucose ($1.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ lean mass). Glycaemia was determined using a glucometer (Accu-chek Performa, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). The area under the curve for glucose (AUC) and the netAUC (obtained by subtracting the baseline glucose concentration) were calculated. Blood samples were centrifuged at 2000g for 10min and plasma samples were store at -80°C . Plasma insulin was measured using the Ultrasensitive Insulin ELISA Kit (ALPCO, Salem, NH, USA). The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index was calculated as follows: $\text{fasting insulin (mU}\cdot\text{L}^{-1}) \times \text{fasting glucose (mmol}\cdot\text{L}^{-1}) / 22.5$ [33].

Protein extraction and western blotting

Colon tissue samples were homogenized in 500µl of lysis buffer (25mM Tris, 1mM EDTA, 5mM EGTA, 0.1mM MgCl₂, 10% glycerol, 150mM NaCl, 1% Nonidet P-40, 1% SDS) supplemented with protease inhibitor cocktail (cOmplete™, Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail, Roche), 1mM sodium orthovanadate, 1mM PMSF and 5mM N-ethylmaleimide. Homogenates were centrifuged at 10000g at 4°C for 5min. Protein extracts were stored at -80°C. The protein content was determined with a colorimetric assay (DC protein assay, Bio-Rad, USA). 25 µg of proteins were separated on 12% SDS-PAGE gels, transferred to nitrocellulose membranes, and blocked with 5% bovine serum albumin in Tris buffered saline (pH 8) containing 0.05% Tween 20 (TBS-T) at room temperature under agitation for 1h. Then, membranes were incubated with primary antibodies against occludin (1:500; 33-1500; Invitrogen) or zonula occludens-1 (ZO-1) (1:500; 61-7300; Invitrogen) at 4°C under agitation overnight. After washes with TBS-T, membranes were incubated with secondary antibodies in TBS-T at room temperature under agitation for 1h. Antibody interactions were detected with the Enhanced Chemiluminescence

Detection kit (Amersham Biosciences, RPN2108). Images were acquired with the Bio-Rad ChemiDoc system and analysed with Image J. ZO-1 and occludin expression were normalized to GAPDH.

Microbiota composition analysis by Illumina sequencing

Colon samples were transferred in ZR BashingBead™ Lysis Tubes (0.1 & 0.5 mm, Zymo Research) with lysis buffer (Maxwell® RSC Buffy Coat DNA) and homogenized using a Precellys homogenizer (2×15 seconds followed by 2min rest). Lysis tubes were centrifuged at 14000g (4°C, 3min), and supernatants were collected and centrifuged again to ensure that all beads were removed. Then, supernatants were loaded in the cartridges of a Maxwell® RSC Instrument (Promega) for DNA extraction. DNA concentration was determined with a Qubit Fluorometer (Invitrogen), and DNA quality was evaluated by spectrophotometry (260/280 and 260/230 ratios, Nanodrop). The variable regions V3-V4 of bacterial 16S rRNA genes were amplified from purified DNA with MTP Taq DNA Polymerase, 10X MTP Taq Buffer (Sigma, D7442-1500U) and the following primers: forward CTTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCTACGG RAGGCAGCAG, and reverse

GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTTAC
CAGGGTATCTAATCCT. All PCR amplifications were performed with the following cycling conditions: 94°C for 1min, followed by 30 cycles (94°C for 1min, 65°C for 1min, and 72°C for 1min), and a final elongation step at 72°C for 10min. Illumina sequencing was performed in collaboration with the GeT core facility (Toulouse) and sequencing reads were analysed with the software package Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME). Reads from all samples were clustered at 97% sequence identity into operational taxonomic units (OTUs). OTUs with low counts (<0.1% of the total number of sequences per sample) were excluded. The number of taxa (α -diversity) was measured using the Shannon index. Species richness (β -diversity) was determined by measuring the distance between communities, based on unweighted Unifrac distances from the OTU table, to perform Principal coordinates analysis (PCoA). A linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis was performed to identify differentially abundant bacterial taxa among groups.

Faecal short-chain fatty acid (SCFA) quantification

Weighted faecal samples were reconstituted in 100 μ L Milli-Q® water, disrupted and then incubated at 4°C for 2h and centrifuged at 12000g at 4°C for 15min. Supernatants were weighted, and saturated phosphotungstic acid was added (1g for 100 μ L). After overnight incubation at 4°C, samples were centrifuged again and SCFA concentrations were determined using gas chromatography (Nelson 1020, Perkin-Elmer, St Quentin en Yvelines, France), as previously described [34,35].

Plasma lipopolysaccharide (LPS) load quantification

LPS was quantified using HEK-Blue-mTLR4 cells (Invivogen, San Diego, CA) and plasma samples collected at sacrifice. 180 μ L of a cell suspension (1.4×10^4 cells per ml in HEK-Blue Detection medium) (Invivogen, San Diego, CA) was added to 20 μ L of each diluted (1:10) plasma sample. LPS (Sigma, St.Louis, MO) was used as a positive control and standard range. Plates were incubated at 37°C in 5% CO₂ for 24h and alkaline phosphatase activity was measured at 620 nm.

Statistical Analysis

All statistical analyses were carried out using the Statistica software (version 12). Data are presented as the mean \pm standard error of the mean (SEM). The data normal distribution was tested using the Kolmogorov–Smirnov test and the homogeneity of variance was tested with the F-test. A two-way ANOVA with repeated measures was used to determine group (G) and time (T) effects and G x T interactions. When a significant effect was found, post-hoc multiple comparisons were done using the Newman–Keuls test. The non-parametric Mann & Whitney test was used to compare results between groups. Pearson correlations were used to test relationships between variables. P values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

Spontaneous physical activity decreases total fat mass and improves glucose metabolism

We first investigated the effects of 12 weeks of HF/HS diet on body composition and glucose metabolism in exercised mice (wheel group; n=21) and sedentary mice (control group; n=10). Starting from W7 and up to W12, body weight was

significantly lower in the wheel group than in controls, with the exception of W9 ($p=0.007$) (**Figure 2A**). As total lean mass (expressed in %) was similar in the groups throughout the study period (**Figure 2B**), the decrease of total body mass in the wheel group was mainly due to a reduction in total fat mass compared with controls (**Figure 2C**; $p \leq 0.05$).

Mice in the wheel group ran on average 3.58 ± 0.39 km per day at 8.53 ± 0.67 m.min⁻¹ during the 12 weeks before bacterial exposition. However, the distance covered and the speed greatly varied among mice. Analysis of the correlation between distance and speed at W12 highlighted three PA profiles: almost inactive, moderately active, and active (**Figure 2D**; $r=0.4$; $p \leq 0.05$). Based on this observation, we systematically performed correlation analyses between metabolism/inflammation parameters and distance/speed to better understand PA effects. Specifically, at W12, the average distance covered per day was negatively correlated with total fat mass (**Figure 2E**; $r=-0.5$; $p \leq 0.05$) and positively correlated with total lean mass (**data not shown**; $r=0.5$; $p \leq 0.01$). Similarly, speed was positively correlated with total lean mass (**data not shown**; $r=0.5$; $p \leq 0.05$),

strengthening the effect of spontaneous PA on body composition changes.

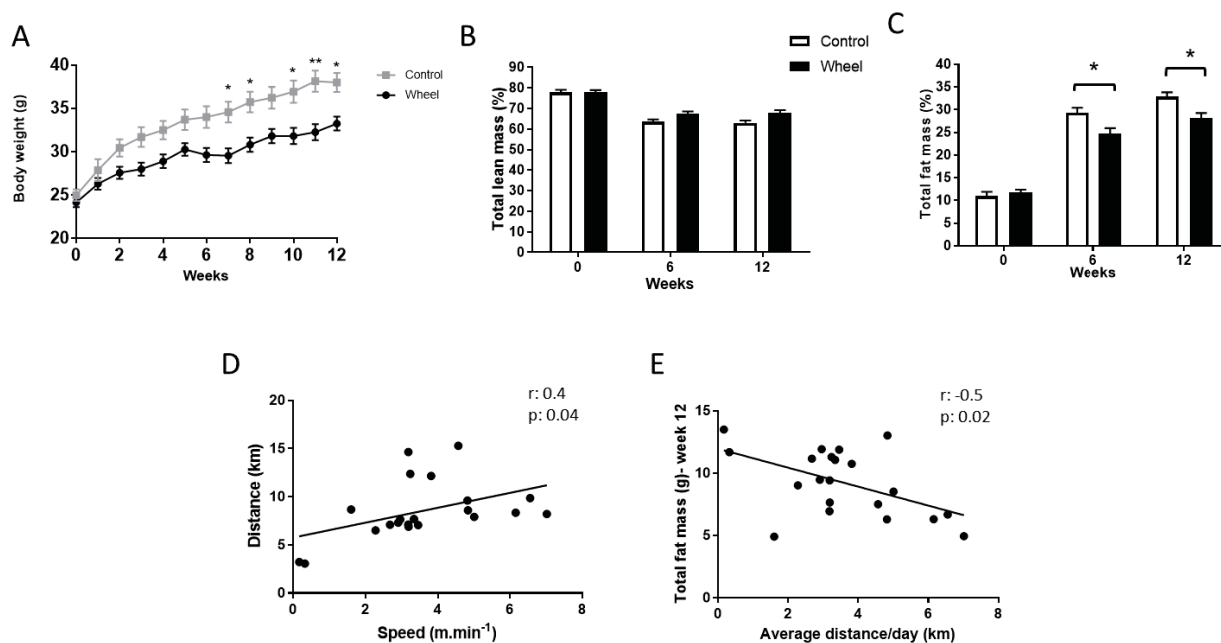


Figure 2: Effect of 12 weeks of spontaneous physical activity on body weight (A), total lean mass (%) (B), and total fat mass (%) (C). Correlations between covered distance and speed (D), total fat mass and average distance/day (E). Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Twelve weeks of spontaneous exercise and/or HF/HS diet did not significantly

change fasting plasma glucose, plasma insulin and HOMA-IR index (**Table 1**).

Table 1: Glucose profile change (difference = 12 weeks – baseline).

	Control	Wheel
Fasting blood glucose (mg.dl ⁻¹)	60.0 \pm 13.5	30.5 \pm 12.8
Serum insulin (ng.ml ⁻¹)	0.9 \pm 0.6	1.2 \pm 0.2
Homa-IR	19.4 \pm 10.1	13.8 \pm 2.5

HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance. Data are expressed as the mean \pm SEM.

Similarly, plasma glucose values during the OGTT and $_{net}$ AUC values at W12 were not significantly different between groups

(repeated measures ANOVA)(**Figure 3A-B**). However, fasting plasma glucose and $_{net}$ AUC were negatively correlated with the

average distance covered per day (**Figure 3C-D**; $r=-0.6$; $p\leq 0.01$ for both). The glucose netAUC was also negatively correlated with

the average speed (**Figure 3E**; $r=-0.6$; $p\leq 0.01$).

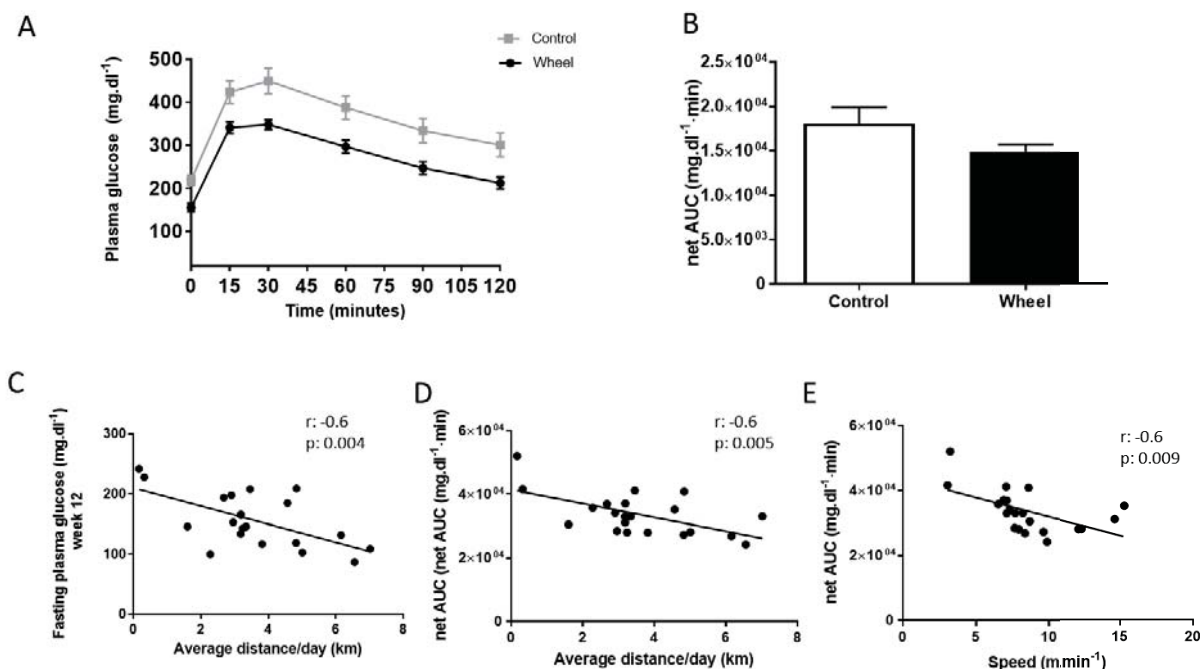


Figure 3: Effect of 12 weeks of spontaneous physical activity on blood glucose response to OGTT (A), and glucose netAUC (B). Correlations between fasting plasma glucose and average distance/day (C), glucose netAUC and average distance/day (D), glucose netAUC and speed (E). Data are expressed as the mean \pm SEM.

Spontaneous physical activity prevents mesenteric adipose tissue accumulation

At W12, mice in both groups were orally challenged with AIEC LF82 bacteria for 6 days and sacrificed at day 10 after the first exposure (**Figure 1**). Body weight loss (percentage) during these 10 days was not significantly different between groups

(**Figure 4A**), although it was lower in mice that ran faster (**Figure 4B**; $r=0.5$; $p\leq 0.05$). Moreover, the weight of mesenteric adipose tissue (reflecting visceral adipose tissue) was lower in the wheel group compared with controls (**Figure 4C**, $p\leq 0.05$), particularly in mice that ran a greater distance (**Figure 4D**; $r=-0.6$; $p\leq 0.01$).

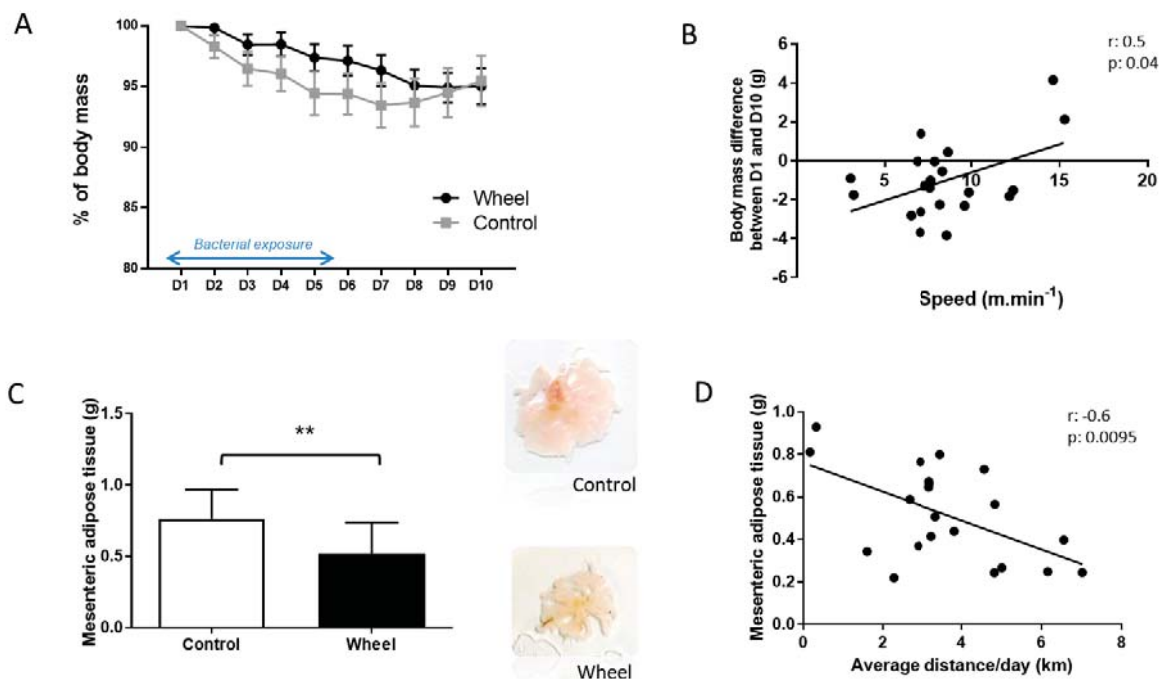


Figure 4: Effect of 12 weeks of spontaneous physical activity on body mass and body composition after bacterial exposure. Body mass loss (%) during 10 days (A). Correlation between body mass difference between day 1 (D1) and D10 and speed (B). Weight of mesenteric adipose tissue measured *post-mortem* (C). Correlation between mesenteric adipose tissue weight and average distance/day (D). Data are the mean \pm SEM; ** $p < 0.01$.

Spontaneous physical activity improves the barrier function and restores SCFA production

HF/HS diets alter intestinal permeability favouring bacterial translocation and inflammation [11] and reduces SCFA production (acetate, propionate and butyrate). At sacrifice, the expression of the colon tight junction proteins occludin and ZO-1 was increased in the wheel group compared with controls (**Figure 5A**; $p \leq 0.05$). Similarly, the concentration of

propionate and butyrate in faecal samples was increased in the wheel group compared with controls ($p \leq 0.05$), without effect for acetate (**Figure 5B**). Occludin, ZO-1 and butyrate levels were negatively correlated with mesenteric adipose tissue weight (data not shown, $r = -0.5$, $p \leq 0.01$; $r = -0.4$, $p \leq 0.05$; $r = -0.4$, $p \leq 0.05$; respectively). Moreover, ZO-1 and occludin levels were positively correlated with butyrate levels ($r = -0.5$, $p \leq 0.01$; $r = -0.4$; $p \leq 0.05$; respectively). Finally, the plasma

concentration of active LPS was comparable between groups (Figure 5C). However, the plasma concentration of

active LPS was negatively correlated with the average distance (Figure 5E, $r=-0.4$; $p\leq 0.05$).

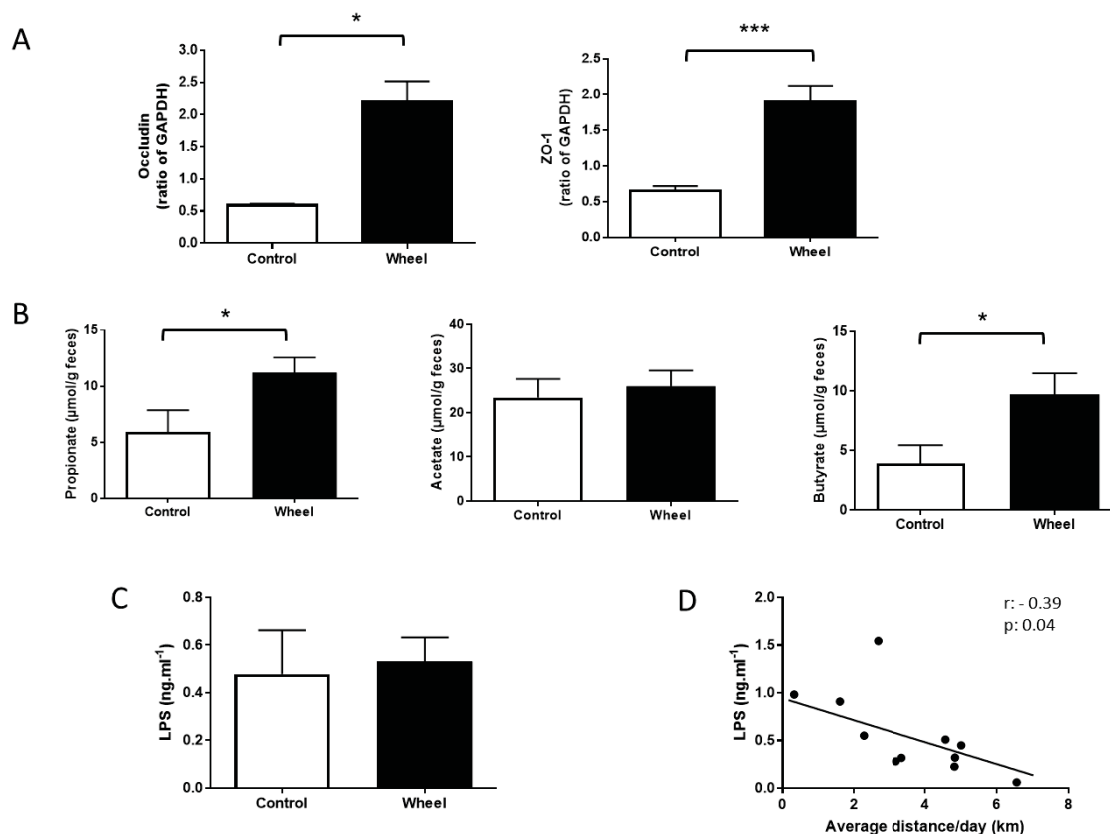


Figure 5: Effect of spontaneous physical activity on colon tight junction protein expression (A), on the faecal concentration of the three main short-chain fatty acids (B), and on the plasma concentration of active lipopolysaccharide (C). Correlation between active lipopolysaccharide concentration and average distance/day (D). Data are the mean \pm SEM; * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

Spontaneous physical activity modulates the mucosa-associated intestinal microbiota

To investigate whether the changes in total and mesenteric fat mass, SCFA production and tight junction expression in the wheel group could be related to gut microbiota modulation, we compared the abundance

and composition of the colon microbiota in the wheel group ($n=14$) and control group ($n=7$) at sacrifice. The α -diversity (Shannon index) did not show any difference in species richness between groups (Figure 6A). However, PCoA analysis based on the unweighted uniFrac distance matrices, which allows highlighting the phylogenetic relationship and composition of colon

bacterial microbiota samples, revealed that colon samples of the two groups clustered in two distinctive groups (**Figure 6B**). This indicated that spontaneous exercise changed the gut microbiota composition, with principal component scores that accounted for 6.31% (PC1), 11.71 % (PC2) and 30.97 % (PC3) of the total variance. The significant separation of the wheel and control colon samples was confirmed with the ANOSIM test ($p \leq 0.05$). As the β -diversity changes indicated a functional modification of gut microbiota, we

performed a LefSe analysis using the non-parametric Kruskal-Wallis rank sum test followed by linear discriminant analysis to identify genera that differed significantly between groups (**Figure 6C**). In line with the higher butyrate levels in the wheel group, *Ruminococcus* and *Oscillospira* (butyrate-producing colon bacteria) were more abundant in the wheel group than in controls. Conversely, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, which are recognized as health-promoting genera, were less abundant in the control group.

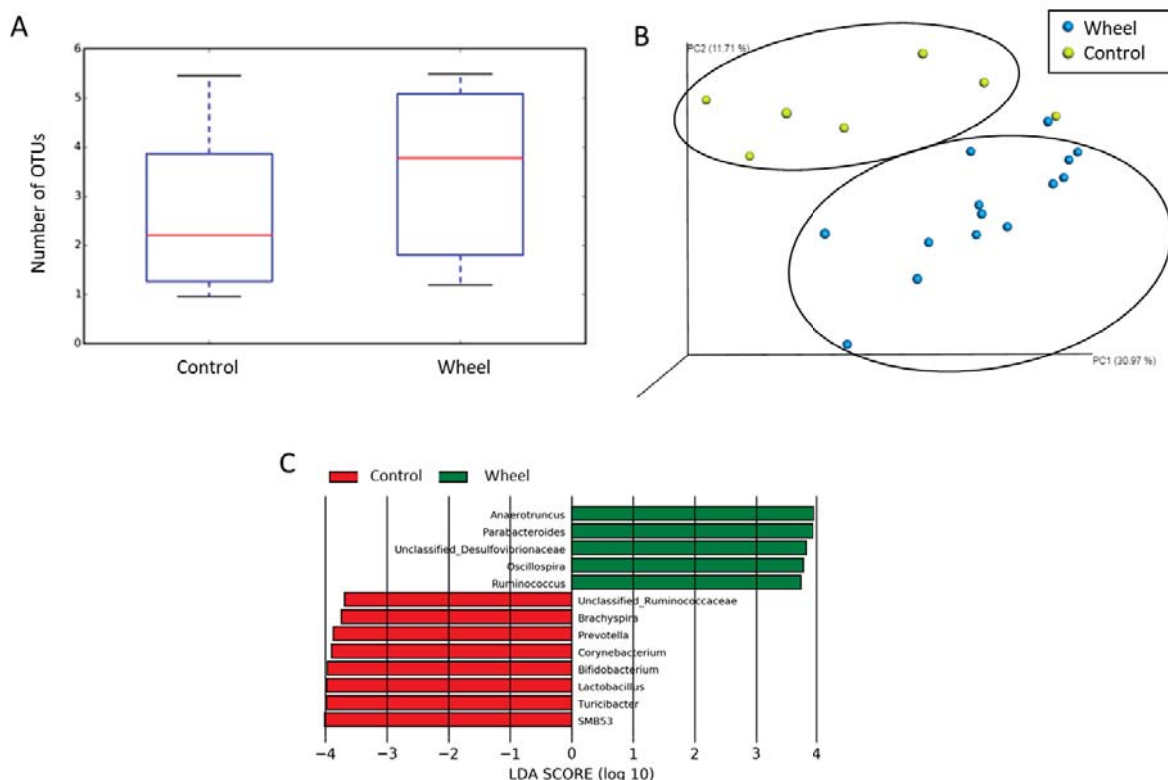


Figure 6: Gut microbiota composition analysed by 16S rRNA gene sequencing using colon DNA samples (Illumina MiSeq system) at the end of the study (n=14 animals from the wheel group and n=7 controls). Shannon index (A), PCoA plots (B), and LefSe analysis (C).

DISCUSSION

In the present study, we demonstrated that spontaneous PA decreases total fat mass and could improve glucose metabolism in CEABAC10 mice fed a HF/HS diet. Moreover, in the wheel group, tight junction protein expression (reflecting intestinal permeability) was increased after AIEC bacterial exposure and this could contribute to reduce metabolic endotoxemia and limit mesenteric adipose tissue expansion. Spontaneous PA also induced changes in gut microbiota composition by increasing the proportion of SCFA-producing bacteria (*Oscillospira* and *Ruminococcus*), whereas beneficial and anti-inflammatory genera (*Bifidobacterium* and *Lactobacillus*) were decreased in the sedentary group. These changes were accompanied by higher faecal levels of propionate and butyrate in the wheel group.

For the last 10-15 years, *Escherichia coli* has been the most suspected bacteria in CD aetiology [36]. AIEC prevalence varies from 21% to 63% of patients with CD [6,37]. Moreover, a Western diet, characterized by low fibre and high fat intake, leads to dysbiosis [11,38,39]. After exposure to the AIEC strain LF82, the group of CEABAC10 mice that ran fastest lost the least weight.

Moreover, mesenteric adipose tissue weight was lower in the wheel group compared with controls. Mesenteric adipose tissue expansion is a characteristic of inflammation in CD [18], and its mainly due to bacterial translocation. Indeed, dysbiosis alters membrane junctions, thus increasing intestinal permeability [40]. The resulting bacterial translocation leads to metabolic endotoxemia (increase of LPS level) that is directly involved in the development of chronic inflammation and metabolic disorders, such as obesity, insulin resistance and/or type 2 diabetes [41]. In our study, spontaneous PA increased also tight junction protein expression, and the distance covered was negatively correlated with active LPS plasma levels. Moreover, tight junction protein expression was negatively associated with the amount of mesenteric adipose tissue, strengthening the importance of intestinal permeability in mesenteric adipose tissue expansion. This result is of great interest because it is thought that PA, especially high intensity and long duration exercise, can induce ischemia that increases intestinal permeability (only when at least 50% of blood flow is reduced). This phenomenon is called the "leaky gut". Intestinal permeability is 1.5 to 3 times higher in high-

level athletes than in recreational exercisers [42], and many strategies have been developed to counteract leaky gut in elite athletes [43]. However, when duration and PA level are correctly controlled over a long period, exercise may be beneficial for gut health. Holland *et al.* found that in rats, exercise for 10 days (60 min at 30m.min⁻¹, 5 days/week) reduces intestinal inflammation 24h post-exercise and suggested that exercise may contribute to maintain normal intestinal permeability [44].

SCFA (propionate, butyrate and acetate) are the main end products of intestinal microbial fermentation. They participate in the intestinal barrier integrity by promoting the secretion of anti-inflammatory cytokines and anti-microbial peptides and by increasing the expression of tight junction proteins [45,46]. The present study found that spontaneous PA increased butyrate and propionate levels in faeces. This could explain the higher tight junction protein expression in the wheel group. Indeed, LPS-mediated disruption of the human intestinal epithelial cell barrier could be alleviated by SCFA through inhibition of the abnormal distribution of ZO-1 and decrease of transepithelial electrical resistance and tight junction

protein expressions [47]. This hypothesis is reinforced by the positive association between butyrate and tight junction protein expression observed in the present study. In accordance, 5 weeks of spontaneous exercise increased n-butyrate levels in Wistar rats, but had no effect on acetate and propionate [48]. More recently, a study in C57BL/6 mice showed no effect of spontaneous exercise for 6 weeks on SCFA, but the butyrate/acetate ratio increased with exercise [25]. In humans, six weeks (3 days/week) of moderate (30 to 60 minutes at 60% of the heart rate reserve; HRR) to vigorous (60 minutes at 75% HRR) exercise increased SCFA in lean subjects, but not in volunteers with obesity [49]. SCFA might modulate the regulation of energy homeostasis and glucose metabolism [50]. In our study, butyrate level was negatively associated with mesenteric adipose tissue weight. Interestingly, G-protein coupled receptors (SCFA receptors) are found in adipose tissue [51], suggesting a role for SCFA in adipose tissue metabolism. Several studies reported that SCFA, especially acetate, decrease basal lipolysis in adipose tissue in humans [52] and also in cell lines [51,53]. Partial inhibition of basal lipolysis prevents ectopic fat accumulation and insulin resistance and concomitantly increases

SCFA-induced oxidation. In this context, the increase of butyrate and propionate levels may partly explain the lower weight and total fat mass and the activity intensity-related improvement of glucose metabolism observed in our study.

In recent years, the effects of PA on gut microbiota have been increasingly studied in animals and also in humans. Here, β -diversity was significantly different between groups, partly due to a decrease of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Turicibacter*, *SMB53*, and *Brachyspira* in the control group and an increase of *Anaerotruncus*, *parabacteroides*, *Desulfovibrionaceae*, *Oscillospira* and *Ruminococcus* in the wheel group. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* are two health-promoting bacteria used as probiotics to counteract the effect of Western diet [54,55]. Moreover, they are reduced in patients with CD [56]. The decrease of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in the control group suggests that PA prevents the HF/HS diet effects partly by modulating the gut microbiota. Similarly, Evans et al. suggested that 12 weeks of spontaneous PA in a mouse model of obesity could play a role in the prevention of Western diet adverse effects [30]. *Oscillospira* and

Ruminococcus are negatively associated with visceral fat mass and the android/gynoid ratio, suggesting a potential proactive role in cardiovascular risk [57]. Moreover, the abundance of *Ruminococcus*, a butyrate producer, is reduced in patients with CD [58]. Our study indicates that spontaneous PA can increase their abundance in the colon of CEABAC10 mice that mimic CD susceptibility. *Oscillospira* is an anaerobic bacterial genus from Clostridial cluster IV and part of the Firmicutes phylum. *Oscillospira* abundance has been associated with leanness and is reduced in patients with CD [59,60]. The benefits of *Oscillospira* are partially due to butyrate production [61]. Petriz et al. showed a positive association between *Oscillospira* and blood lactate levels, suggesting an exercise intensity effect on gut microbiota composition [62]. The increase of *Oscillospira* following lightly forced exercise (8-12 m.min⁻¹; 5% grade) compared with voluntary exercise supports this hypothesis [63]. However, in the first study small numbers of animals (n=9) were used and in the second work the covered distance and speed in the spontaneous activity wheel group were not recorded. Therefore, the effect of PA, especially its duration and intensity, on *Oscillospira* abundance needs additional investigations.

In our study, *Oscillospira* and *Ruminococcus* could have contributed to increase the barrier function integrity by reducing LPS translocation and adipose tissue expansion through butyrate production.

In conclusion, this study shows that spontaneous PA promotes gut microbiota composition changes in CEABAC10 mice fed a HF/HS diet and challenged with bacteria. The abundance of beneficial and anti-inflammatory genera (*Bifidobacterium* and *Lactobacillus*) was reduced in the control group, whereas the abundance of butyrate producers that are considered as health related-genera (*Oscillospira* and *Ruminococcus*) was increased in the spontaneous PA group. These findings suggest that gut microbiota changes could be an early event before inflammation. Identification of health related-genera, such as *Oscillospira*, can help the development of new probiotic generation that should be evaluated in CD patients. In addition, the modulation of gut microbiota by regular PA appears as an attractive complementary therapeutic strategy to extend the periods of remissions in patients with CD.

Acknowledgements

This study was supported by the “Region Auvergne-Rhône-Alpes” (PREVAMIC project) and the I-SITE project (CAP 2025) of the University of Clermont Auvergne, by Inserm (U1071), INRA (USC-2018), and by grants from the Association F. Aupetit (AFA).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

I, Nicolas Barnich, Corresponding Author, has the right to grant on behalf of all authors and does grant on behalf of all authors, an exclusive licence (or non exclusive for government employees) on a worldwide basis to the BMJ Publishing Group Ltd and its Licensees to permit this article to be published in Gut editions and any other BMJ PGL products to exploit all subsidiary rights, as set out in our licence.

REFERENCES

- 1 Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet Lond Engl* 2007;**369**:1641–57. doi:10.1016/S0140-6736(07)60751-X
- 2 Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, *et al.* Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006;**55**:205–11. doi:10.1136/gut.2005.073817
- 3 Wright EK, Kamm MA, Teo SM, *et al.* Recent advances in characterizing the gastrointestinal microbiome in Crohn's disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2015;**21**:1219–28. doi:10.1097/MIB.0000000000000382
- 4 Rapozo DCM, Bernardazzi C, de Souza HSP. Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony. *World J Gastroenterol* 2017;**23**:2124–40. doi:10.3748/wjg.v23.i12.2124
- 5 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;**105**:16731–6. doi:10.1073/pnas.0804812105
- 6 Palmela C, Chevarin C, Xu Z, *et al.* Adherent-invasive Escherichia coli in inflammatory bowel disease. *Gut* 2018;**67**:574–87. doi:10.1136/gutjnl-2017-314903
- 7 Barnich N, Carvalho FA, Glasser A-L, *et al.* CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive E. coli, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest* 2007;**117**:1566–74. doi:10.1172/JCI30504
- 8 Carvalho FA, Barnich N, Sivignon A, *et al.* Crohn's disease adherent-invasive Escherichia coli colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *J Exp Med* 2009;**206**:2179–89. doi:10.1084/jem.20090741
- 9 Petta I, Fraussen J, Somers V, *et al.* Interrelation of Diet, Gut Microbiome, and Autoantibody Production. *Front Immunol* 2018;**9**:439. doi:10.3389/fimmu.2018.00439
- 10 Agus A, Denizot J, Thévenot J, *et al.* Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive E. coli infection and intestinal inflammation. *Sci Rep* 2016;**6**:19032. doi:10.1038/srep19032
- 11 Martinez-Medina M, Denizot J, Dreux N, *et al.* Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut* 2014;**63**:116–24. doi:10.1136/gutjnl-2012-304119
- 12 Desreumaux P, Ernst O, Geboes K, *et al.* Inflammatory alterations in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999;**117**:73–81.
- 13 Yadav DP, Madhusudhan KS, Kedia S, *et al.* Development and validation of visceral fat quantification as a surrogate marker for differentiation of Crohn's disease and intestinal tuberculosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2017;**32**:420–6. doi:10.1111/jgh.13535
- 14 Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. 1932. *Mt Sinai J Med N Y* 2000;**67**:263–8.
- 15 Drouet M, Dubuquoy L, Desreumaux P, *et al.* Visceral fat and gut inflammation. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif* 2012;**28**:113–7. doi:10.1016/j.nut.2011.09.009
- 16 Fink C, Karagiannides I, Bakirtzi K, *et al.* Adipose tissue and inflammatory bowel disease pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis* 2012;**18**:1550–7. doi:10.1002/ibd.22893
- 17 Peyrin-Biroulet L, Chamillard M, Gonzalez F, *et al.* Mesenteric fat in Crohn's disease: a pathogenetic hallmark or an innocent bystander? *Gut* 2007;**56**:577–83. doi:10.1136/gut.2005.082925
- 18 Serena C, Keiran N, Madeira A, *et al.* Crohn's Disease Disturbs the Immune Properties of Human Adipose-Derived Stem Cells Related to Inflammasome Activation. *Stem Cell Rep* 2017;**9**:1109–23. doi:10.1016/j.stemcr.2017.07.014

- 19 Peyrin-Biroulet L, Gonzalez F, Dubuquoy L, *et al.* Mesenteric fat as a source of C reactive protein and as a target for bacterial translocation in Crohn's disease. *Gut* 2012;**61**:78–85. doi:10.1136/gutjnl-2011-300370
- 20 Gummesson A, Carlsson LMS, Storlien LH, *et al.* Intestinal permeability is associated with visceral adiposity in healthy women. *Obes Silver Spring Md* 2011;**19**:2280–2. doi:10.1038/oby.2011.251
- 21 Kredel LI, Siegmund B. Adipose-tissue and intestinal inflammation - visceral obesity and creeping fat. *Front Immunol* 2014;**5**:462. doi:10.3389/fimmu.2014.00462
- 22 Paeschke A, Erben U, Kredel LI, *et al.* Role of visceral fat in colonic inflammation: from Crohn's disease to diverticulitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2017;**33**:53–8. doi:10.1097/MOG.0000000000000324
- 23 Zulian A, Canello R, Ruocco C, *et al.* Differences in visceral fat and fat bacterial colonization between ulcerative colitis and Crohn's disease. An in vivo and in vitro study. *PLoS One* 2013;**8**:e78495. doi:10.1371/journal.pone.0078495
- 24 Wang Q, Xu K-Q, Qin X-R, *et al.* Association between physical activity and inflammatory bowel disease risk: A meta-analysis. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver* 2016;**48**:1425–31. doi:10.1016/j.dld.2016.08.129
- 25 Allen JM, Mailing LJ, Cohrs J, *et al.* Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* 2017;**0**. doi:10.1080/19490976.2017.1372077
- 26 Bilski J, Mazur-Bialy AI, Brzozowski B, *et al.* Moderate exercise training attenuates the severity of experimental rodent colitis: the importance of crosstalk between adipose tissue and skeletal muscles. *Mediators Inflamm* 2015;**2015**:605071. doi:10.1155/2015/605071
- 27 Cook MD, Martin SA, Williams C, *et al.* Forced treadmill exercise training exacerbates inflammation and causes mortality while voluntary wheel training is protective in a mouse model of colitis. *Brain Behav Immun* 2013;**33**:46–56. doi:10.1016/j.bbi.2013.05.005
- 28 Saxena A, Fletcher E, Larsen B, *et al.* Effect of exercise on chemically-induced colitis in adiponectin deficient mice. *J Inflamm Lond Engl* 2012;**9**:30. doi:10.1186/1476-9255-9-30
- 29 Peppler WT, Anderson ZG, MacRae LM, *et al.* Habitual physical activity protects against lipopolysaccharide-induced inflammation in mouse adipose tissue. *Adipocyte* 2017;**6**:1–11. doi:10.1080/21623945.2016.1259778
- 30 Evans CC, LePard KJ, Kwak JW, *et al.* Exercise Prevents Weight Gain and Alters the Gut Microbiota in a Mouse Model of High Fat Diet-Induced Obesity. *PLoS ONE* 2014;**9**. doi:10.1371/journal.pone.0092193
- 31 Liu W-X, Wang T, Zhou F, *et al.* Voluntary exercise prevents colonic inflammation in high-fat diet-induced obese mice by up-regulating PPAR- γ activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2015;**459**:475–80. doi:10.1016/j.bbrc.2015.02.047
- 32 Samaan MC, Marcinko K, Sikkema S, *et al.* Endurance interval training in obese mice reduces muscle inflammation and macrophage content independently of weight loss. *Physiol Rep* 2014;**2**. doi:10.14814/phy2.12012
- 33 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;**28**:412–9.
- 34 Lan A, Bruneau A, Bensaada M, *et al.* Increased induction of apoptosis by *Propionibacterium freudenreichii* TL133 in colonic mucosal crypts of human microbiota-associated rats treated with 1,2-dimethylhydrazine. *Br J Nutr* 2008;**100**:1251–9. doi:10.1017/S0007114508978284

- 35 Wrzosek L, Miquel S, Noordine M-L, *et al.* Bacteroides thetaiotaomicron and Faecalibacterium prausnitzii influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol* 2013;**11**:61. doi:10.1186/1741-7007-11-61
- 36 Agus A, Massier S, Darfeuille-Michaud A, *et al.* Understanding host-adherent-invasive Escherichia coli interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies. *BioMed Res Int* 2014;**2014**:567929. doi:10.1155/2014/567929
- 37 Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, *et al.* High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004;**127**:412–21.
- 38 Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, *et al.* High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* 2009;**137**:1716-1724-2. doi:10.1053/j.gastro.2009.08.042
- 39 Tomas J, Mulet C, Saffarian A, *et al.* High-fat diet modifies the PPAR- γ pathway leading to disruption of microbial and physiological ecosystem in murine small intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;**113**:E5934–43. doi:10.1073/pnas.1612559113
- 40 Kim K-A, Gu W, Lee I-A, *et al.* High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One* 2012;**7**:e47713. doi:10.1371/journal.pone.0047713
- 41 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;**56**:1761–72. doi:10.2337/db06-1491
- 42 de Oliveira EP, Burini RC. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;**12**:533–8. doi:10.1097/MCO.0b013e32832e6776
- 43 Jeukendrup AE. Training the Gut for Athletes. *Sports Med Auckl NZ* 2017;**47**:101–10. doi:10.1007/s40279-017-0690-6
- 44 Holland AM, Hyatt HW, Smuder AJ, *et al.* Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. *BMC Res Notes* 2015;**8**:514. doi:10.1186/s13104-015-1500-6
- 45 Peng L, Li Z-R, Green RS, *et al.* Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr* 2009;**139**:1619–25. doi:10.3945/jn.109.104638
- 46 Wang H-B, Wang P-Y, Wang X, *et al.* Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. *Dig Dis Sci* 2012;**57**:3126–35. doi:10.1007/s10620-012-2259-4
- 47 Feng YH, Huang YL, Wang P, *et al.* [Effects of short chain fatty acid on barrier disruption of human intestinal epithelial cell induced by endotoxin/lipopolysaccharide and the related mechanism]. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi Zhonghua Shaoshang Zazhi Chin J Burns* 2018;**34**:214–8.
- 48 Matsumoto M, Inoue R, Tsukahara T, *et al.* Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;**72**:572–6. doi:10.1271/bbb.70474
- 49 Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, *et al.* Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc* Published Online First: 20 November 2017. doi:10.1249/MSS.0000000000001495
- 50 Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol* 2015;**11**:577–91. doi:10.1038/nrendo.2015.128
- 51 Ge H, Li X, Weiszmann J, *et al.* Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids. *Endocrinology* 2008;**149**:4519–26. doi:10.1210/en.2008-0059

- 52 Canfora EE, van der Beek CM, Jocken JWE, *et al.* Colonic infusions of short-chain fatty acid mixtures promote energy metabolism in overweight/obese men: a randomized crossover trial. *Sci Rep* 2017;**7**:2360. doi:10.1038/s41598-017-02546-x
- 53 Jocken JWE, González Hernández MA, Hoebbers NTH, *et al.* Short-Chain Fatty Acids Differentially Affect Intracellular Lipolysis in a Human White Adipocyte Model. *Front Endocrinol* 2018;**8**. doi:10.3389/fendo.2017.00372
- 54 Kang D, Li Z, Ji GE. Anti-obese Effects of a Mixture of Fermented Ginseng, *Bifidobacterium longum* BORI, and *Lactobacillus paracasei* CH88 in high-fat diet-fed mice. *J Microbiol Biotechnol* Published Online First: 16 March 2018. doi:10.4014/jmb.1801.01016
- 55 Li Z, Jin H, Oh SY, *et al.* Anti-obese effects of two *Lactobacilli* and two *Bifidobacteria* on ICR mice fed on a high fat diet. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;**480**:222–7. doi:10.1016/j.bbrc.2016.10.031
- 56 Alhagamhmad MH, Day AS, Lemberg DA, *et al.* An overview of the bacterial contribution to Crohn disease pathogenesis. *J Med Microbiol* 2016;**65**:1049–59. doi:10.1099/jmm.0.000331
- 57 Beaumont M, Goodrich JK, Jackson MA, *et al.* Heritable components of the human fecal microbiome are associated with visceral fat. *Genome Biol* 2016;**17**. doi:10.1186/s13059-016-1052-7
- 58 Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, *et al.* Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion* 2016;**93**:59–65. doi:10.1159/000441768
- 59 Konikoff T, Gophna U. Oscillospira: a Central, Enigmatic Component of the Human Gut Microbiota. *Trends Microbiol* 2016;**24**:523–4. doi:10.1016/j.tim.2016.02.015
- 60 Walters WA, Xu Z, Knight R. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD. *FEBS Lett* 2014;**588**:4223–33. doi:10.1016/j.febslet.2014.09.039
- 61 Gophna U, Konikoff T, Nielsen HB. Oscillospira and related bacteria - From metagenomic species to metabolic features. *Environ Microbiol* 2017;**19**:835–41. doi:10.1111/1462-2920.13658
- 62 Petriz BA, Castro AP, Almeida JA, *et al.* Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. *BMC Genomics* 2014;**15**:511. doi:10.1186/1471-2164-15-511
- 63 Allen JM, Berg Miller ME, Pence BD, *et al.* Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985 2015;**118**:1059–66. doi:10.1152/jappphysiol.01077.2014

Résultats complémentaires publication n°2

Cette étude visait à évaluer l'effet préventif d'une activité physique spontanée sur l'interaction « microbiote intestinal - tissu adipeux » suite à une exposition à la bactérie AIEC chez souris CEABAC10 sous régime HF/HS.

Cette étude montre, dans un modèle murin mimant la maladie de Crohn (MC), que l'activité physique spontanée pendant 12 semaines permet de contrer les effets d'un régime riche en graisses et en sucres en favorisant une moindre prise de masse grasse et en améliorant la tolérance au glucose. Suite à une exposition à la souche bactérienne *Escherichia coli* Adhérent-Invasive (AIEC) LF82, l'activité physique spontanée favorise une modification de la composition du microbiote en favorisant les genres producteurs de butyrate (*Oscillospira* et *Ruminococcus*) tandis que l'abondance des genres bénéfiques et anti-inflammatoires (*Bifidobacterium* et *Lactobacillus*) est réduite dans le groupe contrôle. Dans ce contexte, l'augmentation du butyrate dans les selles peut directement participer à l'augmentation de l'expression des jonctions serrées renforçant la fonction de barrière et à la réduction de l'endotoxémie métabolique, observés dans le groupe roue (AP spontanée). Ces adaptations favorisent la diminution du tissu adipeux mésentérique, fortement impliqué dans l'inflammation chez des patients atteints de la MC. Ces résultats suggèrent que la modification du microbiote intestinal est un événement précoce survenant avant que l'inflammation ne se produise et que sa modulation par différentes modalités d'exercice représente un axe de recherche prometteur.

⇒ Suivi de la distance et de la vitesse grâce au système de mesure de l'activité spontanée des souris durant les 12 semaines pré-exposition bactérienne.

Afin de suivre quotidiennement l'activité des souris nous avons contacté différentes sociétés fabriquant des cages avec roues incluses et permettant de mesurer la distance et la vitesse. Les prix proposés étant fortement hors-budget, nous avons réalisé des tests à l'aide de compteurs de vélo et de comptes tours. Les souris ont été filmés et observés, mais après quelques jours d'utilisation les données obtenues étaient aberrantes. De ce fait, nous avons contacté un ingénieur collaborant avec le laboratoire AME2P, P. Chausse, afin de mettre au point un système de mesure plus fiable. Nous avons testé avec succès ce système sur une

cage, puis sur l'ensemble des cages avant le lancement du protocole de l'étude. Les données obtenues lors de cette étude sont présentées dans la figure 33.

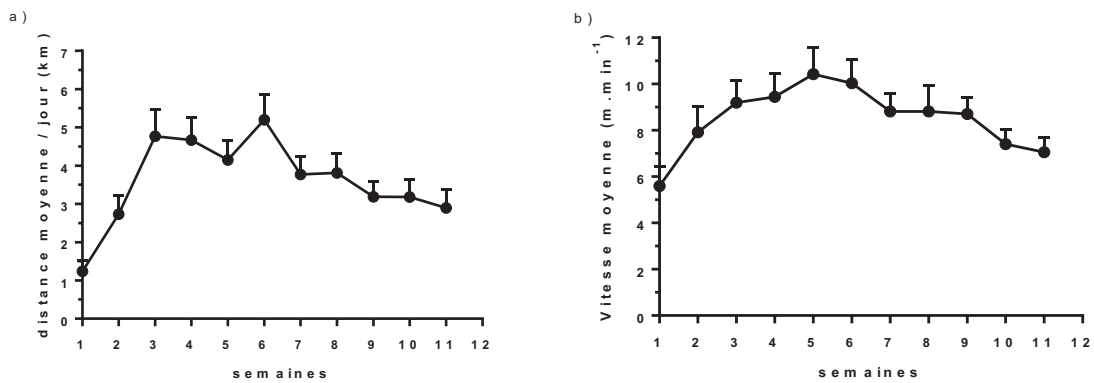


Figure 33 : Suivi de l'activité spontanée des souris pendant les 12 semaines avant exposition bactérienne, (a) distance moyenne parcourue par jour, (b) vitesse moyenne.

Afin d'améliorer ce système de mesure, étant donné que certaines souris avaient tendance à ronger le fil installé le long de la roue (Figure 34), une connexion des émetteurs à la carte contenant le programme créé par P. Chausse via Bluetooth serait l'idéal. Cet incident, non observé lors des tests, explique le fait que nous n'avions pas de mesure de la distance totale, mais seulement une moyenne par jour.



Figure 34 : Montage du système au niveau de la roue d'activité physique spontanée. Le fil du capteur est recouvert de ruban adhésif, ce qui n'empêche pas les souris de le ronger.

⇒ Suivi de la prise alimentaire

Pendant les 12 semaines avant exposition bactérienne le bilan des consommations alimentaires était réalisé. Les résultats observés au cours de cette étude ne peuvent pas être expliqués par des variations de prise alimentaires étant donné que l'ANOVA à mesures répétées ne montre aucune différence entre les groupes quelque soit le temps (Figure 35).

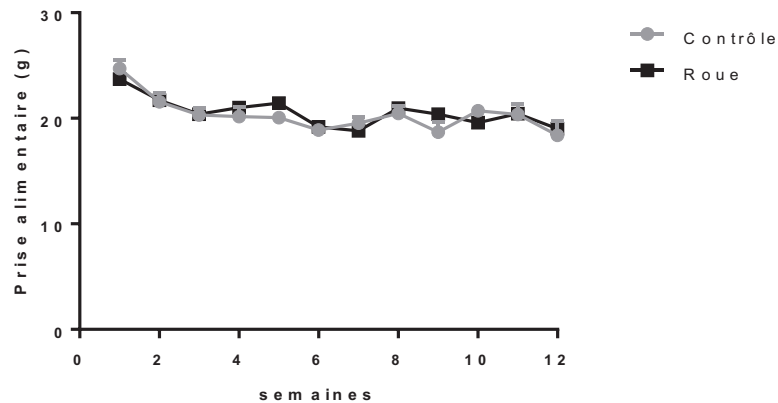


Figure 35 : Prise alimentaire hebdomadaire pré-exposition bactérienne.

Durant la période d'exposition bactérienne, les consommations alimentaires ont été relevées quotidiennement. Cependant, dans les isolateurs, les cages étant difficiles à manipuler, l'évaluation des consommations alimentaires n'était pas optimale. Nous avons alors décidé de ne pas exploiter les données présentées dans la figure 36.

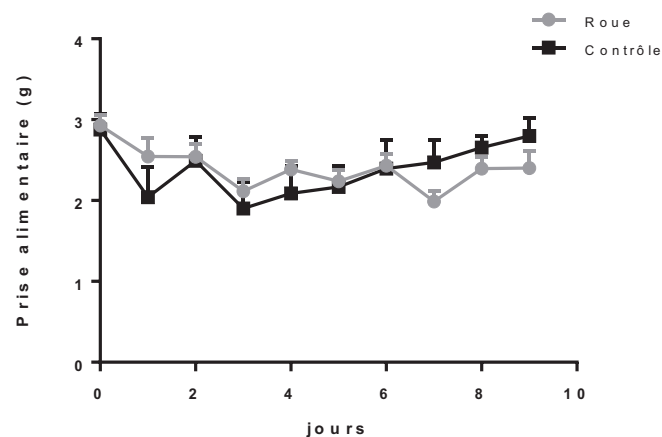


Figure 36 : Prise alimentaire journalière pendant l'exposition bactérienne.

⇒ Effets de l'activité spontanée sur l'inflammation (colon et tissu adipeux)

L'objectif de cette étude était de comprendre les mécanismes survenant avant l'inflammation afin de mettre en place des stratégies thérapeutique de prévention. Nous avons tout de même analysé la sécrétion d'un large panel de cytokines, chimiokines et hormones caractérisant le tissu adipeux mésentérique dans le cadre de la MC. Aucun des facteurs dosés par la méthode ELISA (kits, R&D systems) n'était différent entre les groupes (Figure 37). Nous avons également tenté de déterminer IL-10, IL-1RA, IL-22, TGF- β 1, TNF- α et IL-1 β mais ces cytokines n'ont pas été détectées dans le milieu d'incubation.

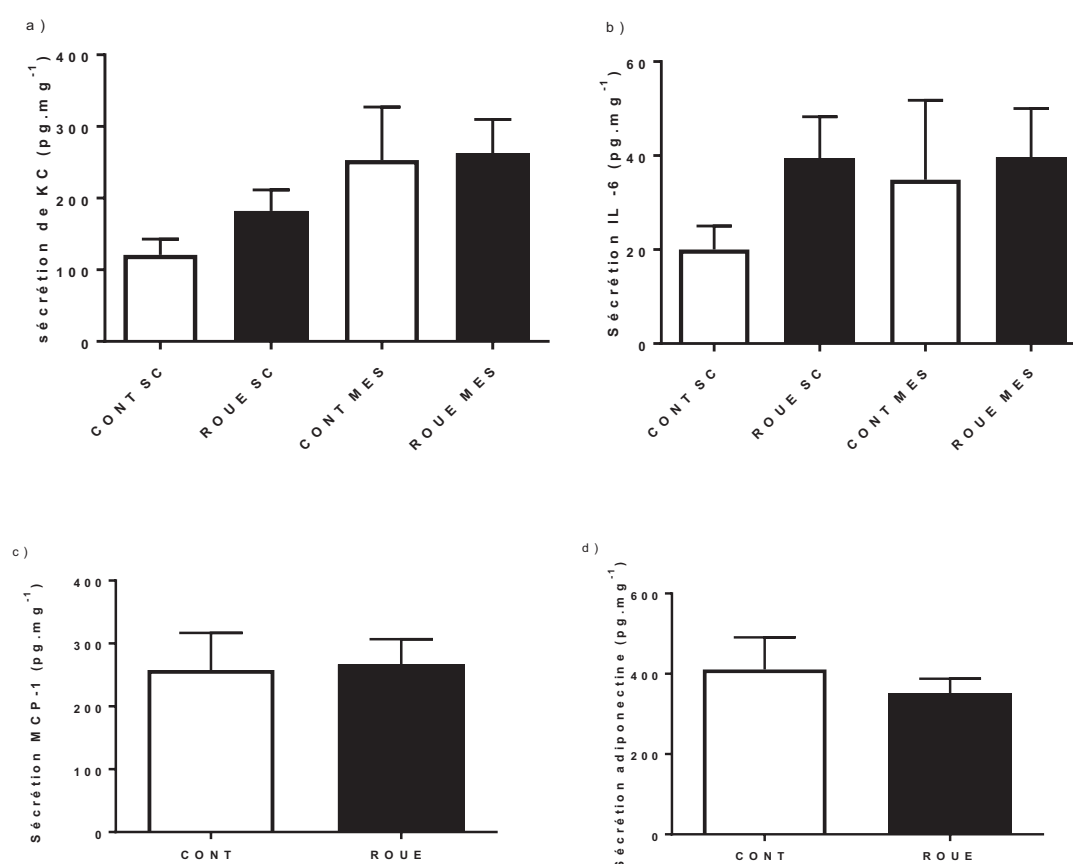


Figure 37 : Sécrétion par le tissu adipeux mésentérique d'agents impliqués dans l'inflammation, KC (a), IL-6 (b), MCP-1 (c) et adiponectine (d). MES: tissu adipeux mésentérique, SC : tissu adipeux sous-cutané.

Les niveaux d'IL-6, KC et l'adiponectine ont également été analysés dans le tissu adipeux mésentérique après broyage et dosage par la méthode Elisa (kits, R&D systems). Les résultats obtenus (non présentés), sont en accord avec les données issues de l'analyse des sécrétions du tissu adipeux soit aucune variation entre les groupes.

Au niveau du colon, nous avons également testé un large panel de cytokines (IL-10, IL-1RA, IL-22, TGF- β 1, TNF- α et IL-1 β), parmi celles détectées, il n'y avait aucune différence entre les groupes contrôle et roue (Figure 38).

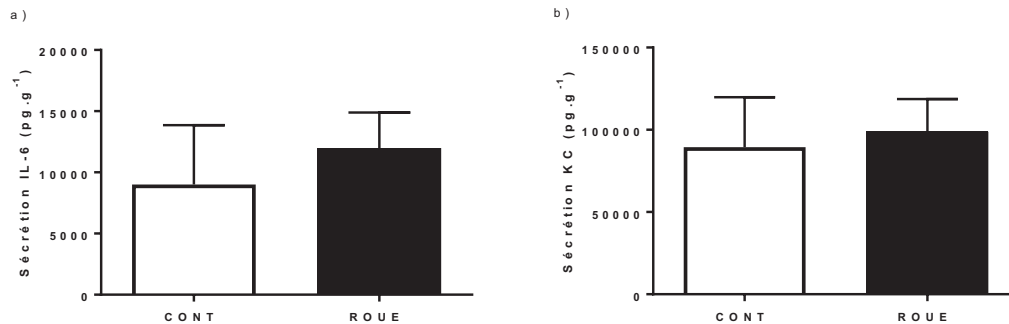


Figure 38 : Sécrétion par le colon de cytokines pro-inflammatoires, IL-6 (a) et KC (b) groupes contrôle (n=10) et roue (n=21).

Nous avons également réalisé des coupes histologiques de colon au laboratoire afin les envoyer à ONIRIS pour que des pathologistes réalisent une analyse morphométrique (profondeur des cryptes). Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les groupes (Figure 39).

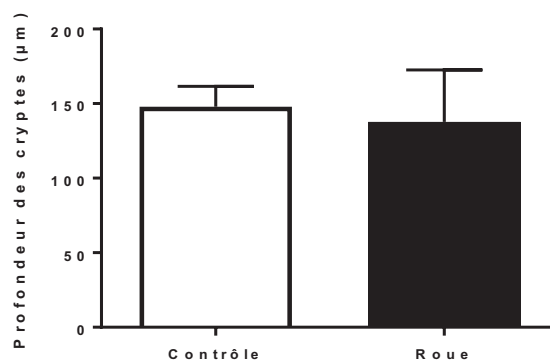


Figure 39 : Profondeur des cryptes intestinales, pour les groupes contrôle (n=10) et roue (n=21).

A partir de coupes de colon, nous avons également essayé de faire un immuno marquage des protéines des jonctions serrées (ZO-1, occludine et claudine-2) afin d'étudier leur localisation. Malheureusement, les lames n'étaient pas exploitables et nous nous sommes orientés vers la technique du western blot afin d'évaluer leur quantité.

La lipocaline-2, un bio-marqueur de l'inflammation intestinale et métabolique (Moschen et al., 2017), a été analysé chaque semaine dans les fèces des souris et à 2 temps durant de l'exposition bactérienne. La lipocaline fécale était plus élevée dans le groupe roue par rapport au groupe contrôle à la semaine 7, semaine à partir de laquelle le poids des souris du groupe roue devient significativement plus faible que le groupe contrôle. Aucune autre différence n'est à noter entre les groupes que ce soit avant ou pendant l'exposition bactérienne (Figure 40).

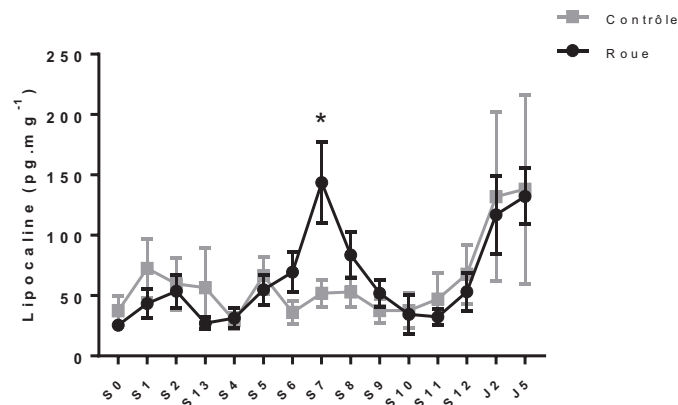


Figure 40 : Suivi de la lipocaline fécale avant et après exposition bactérienne, pour les groupes contrôle ($n=10$) et roue ($n=21$).

Un second marqueur de l'inflammation dans les fèces, la chitinase 3-like 1 (CH3L1), a été mis en avant dans la littérature et au laboratoire (Buisson et al., 2016; Erzin et al., 2008). Toutefois, aucune différence entre les groupes n'est observée au cours du temps (Figure 41).

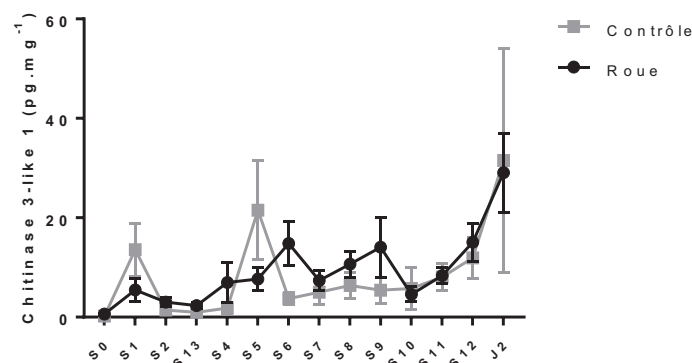


Figure 41 : Suivi de la chitinase fécale avant et après exposition bactérienne, pour les groupes contrôle ($n=10$) et roue ($n=21$).

⇒ Analyse du microbiote du tissu adipeux mésentérique

Sur l'ensemble des souris du protocole, seulement 13 échantillons de tissu adipeux mésentérique de souris du groupe roue ont été séquencés. Parmi les souris analysées deux groupes se distinguent, un groupe ayant une forte présence de bactérie et l'autre ayant une plus faible abondance (Figure 42). En raison de cette grande diversité et afin de ne pas perdre d'informations, aucune normalisation n'a été faite.

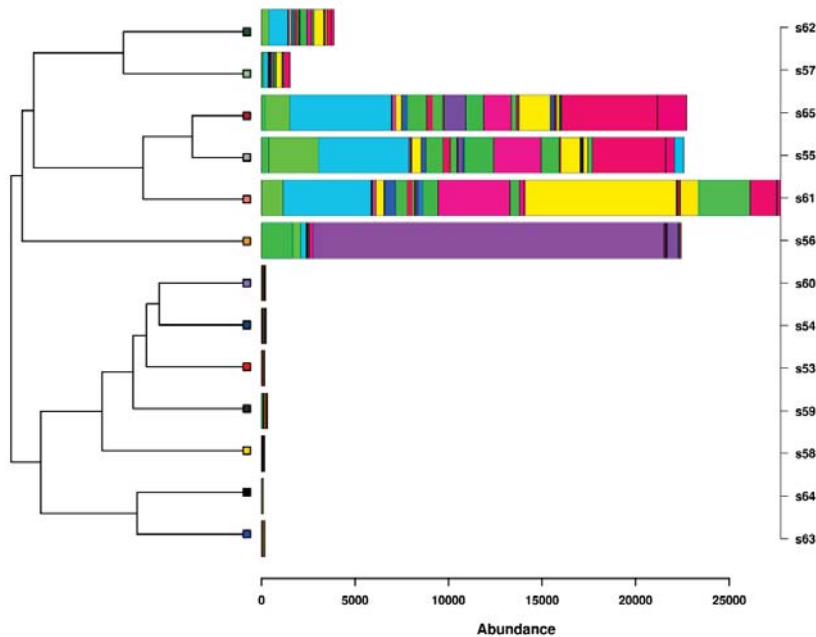


Figure 42 : Abondance des genres bactériens dans le tissu adipeux mésentérique des souris.

Suite à ces données, nous avons voulu déterminer si l'effet modalité (distance et/ou vitesse) pouvait expliquer la formation de ces deux groupes distincts. L'analyse des données obtenues via la roue d'activité physique spontanée ne montre pas de différence dans l'activité des souris entre celles ayant une présence de bactéries (groupe présence) et celles n'en n'ayant pas (groupe absence) (Figure 43).

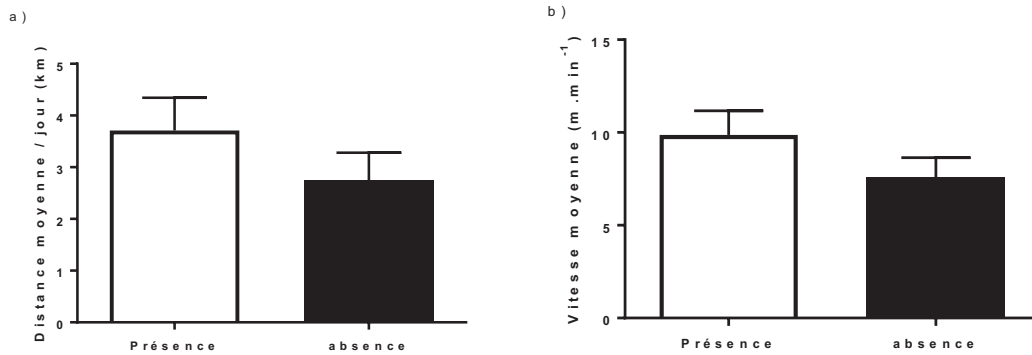


Figure 43 : Effet l'activité physique sur la présence ou l'absence de bactérie dans le tissu adipeux méésentérique. (a) effet de la distance (b) effet de la vitesse.

Afin de simplifier la figure précédente, sur les 6 souris ayant une forte abondance de bactéries, nous avons sélectionné les 10 genres (ou familles) les plus présentes (en terme d'OTU) dans le tissu adipeux méésentérique (Figure 44).

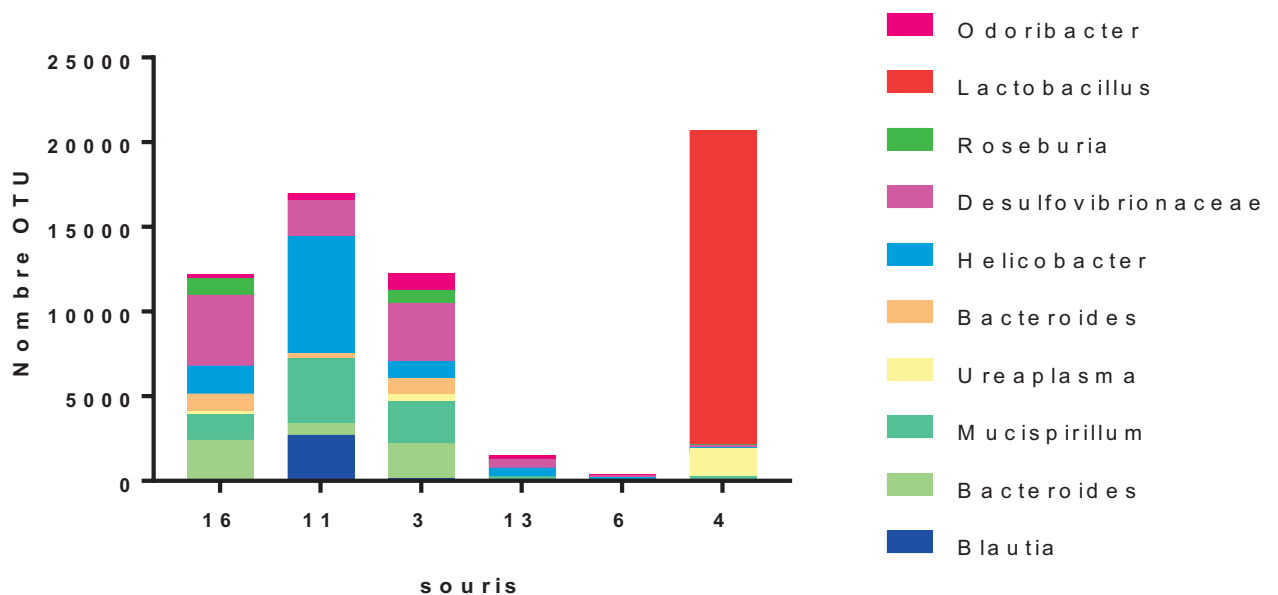


Figure 44 : Abondance des genres bactériens dans le tissu adipeux méésentérique des 6 souris les plus riches en bactéries.

Enfin, à partir de ces analyses, différentes corrélations ont été testées entre la distance et la vitesse avec ces 10 genres bactériens et le nombre d'OTU total ainsi que les niveaux de LPS et des protéines de jonctions serrées avec ces 10 genres bactériens et le nombre d'OTU total. Ces analyses n'ont révélé aucun lien entre les paramètres étudiés.

***Discussion générale et
perspectives***

Aujourd’hui, il est admis que la distribution des graisses corporelles, et non l’excès de tissu adipeux, est nocif pour la santé. En effet, un excès de tissu adipeux au niveau abdominal, et plus particulièrement viscéral est associé aux maladies inflammatoires chroniques incluant par exemple le diabète de type 2 ou des pathologies digestives comme la maladie de Crohn (MC) (Cornier et al., 2011; Karelis, 2008; Sam, 2018; Serena et al., 2017). Plus récemment, il a été montré que le microbiote intestinal était impliqué dans l’étiologie de la MC (Imhann et al., 2018). De plus, dans un contexte de surpoids et/ou d’obésité, des études de transferts de microbiote intestinal ont révélé une forte association entre la masse grasse et les bactéries intestinales (Turnbaugh et al., 2006). Ces avancées scientifiques ont ouvert la porte à de nombreuses pistes thérapeutiques. A l’heure actuelle, les traitements administrés aux patients obèses ou atteints de la MC ne sont que moyennement efficaces à long terme et accompagnés d’effets secondaires. Les bénéfices de l’activité physique dans ces deux pathologies principalement en prévention primaire dans la MC, et en prévention primaire puis secondaire dans l’obésité ne sont plus à démontrer. Toutefois, la littérature actuelle montre que certaines modalités d’exercice seraient plus efficaces que d’autres. En effet, un exercice intermittent de haute intensité (HIIT) serait plus efficace pour réduire la masse grasse abdominale et viscérale en comparaison à un exercice continu à faible intensité (MICT) traditionnel en particulier chez les sujets en surpoids/et ou obèses (Maillard et al., 2016, 2018). En revanche, si l’activité physique s’est avérée bénéfique en prévention primaire dans la MC, l’effet de ces différentes modalités d’exercice reste à définir. Plus récemment, l’activité physique s’est révélée comme un moyen de moduler favorablement le microbiote intestinal, ce qui pourrait être au cœur des mécanismes impliqués dans l’amélioration des paramètres métaboliques et inflammatoires protecteurs de ces deux pathologies inflammatoires chroniques. Dans ce contexte les **objectifs généraux** de cette thèse ont été (1) d’étudier l’influence de différentes modalités d’exercice, HIIT vs. MICT, sur la perte de masse grasse totale, abdominale et viscérale chez des sujets en surpoids et/ou obèses, et (2) de juger de l’effet préventif et/ou de l’efficacité de différentes modalités d’exercice sur l’interaction « microbiote - tissu adipeux » dans un contexte de pathologies inflammatoires chroniques sur des modèles murins.

L'entraînement intermittent de haute intensité est une modalité efficace pour réduire le tissu adipeux viscéral.

Nous avons montré qu'un exercice de type HIIT pendant 16 semaines pratiqué 2 fois par semaine était plus efficace pour réduire la masse grasse abdominale et surtout viscérale en comparaison à un exercice de type MICT chez des femmes ménopausées diabétiques de type 2. La combinaison de la ménopause et d'un diabète de type 2 accroît considérablement le risque de développer une maladie cardio-vasculaire. Ainsi en réduisant le tissu adipeux viscéral, le tissu adipeux le plus impliqué dans ces pathologies, un exercice de type HIIT entrainerait une amélioration de la santé de ces femmes.

Au cours des dernières années, le HIIT a gagné en popularité parmi les athlètes ou comme une stratégie pour contrer des troubles métaboliques (Azuma et Matsumoto, 2017). Si un programme MICT ne comprend que trois variables principales (intensité, durée et fréquence), un programme HIIT est composé de huit composantes principales (intensité de la charge de travail maximale, durée maximale de la charge de travail, charge de récupération, durée de récupération, nombre de répétitions et séries, et phases de durée et d'intensité) (Buchheit and Laursen, 2013). Ainsi des combinaisons sans fin sont possibles rendant difficile de trouver le programme HIIT parfait pour promouvoir la performance (comme VO_2 max, seuil anaérobie, volume systolique) et / ou les adaptations métaboliques et la perte de masse grasse. De plus, la manipulation isolée de chaque variable pourrait affecter différemment les réponses physiologiques aiguës ou chroniques (Gosselin et al., 2012). Il en résulte un large panel de protocoles testés dans diverses populations. Nos résultats pourraient donc être à nuancer en utilisant un autre programme HIIT. Afin de confirmer l'efficacité de cette modalité sur la masse grasse et plus particulièrement la masse grasse viscérale quel que soit le protocole utilisé, nous avons voulu réaliser une méta-analyse incluant des sujets normo-pondérés et/ou obèses des deux sexes.

Dans cette revue nous avons mis en évidence que le HIIT réduisait la masse grasse totale, abdominale et viscérale. Les stratifications statistiques réalisées incluaient la modalité (course à pied vs. vélo), l'intensité de l'exercice et les méthodes de mesures, importantes suite à la prescription de ce type d'entraînement. Les résultats de cette analyse sont néanmoins à confirmer en raison d'un manque important d'information concernant certains protocoles. En effet, au regard de la modalité d'entraînement, des précisions supplémentaires sont

nécessaires aussi bien pour le vélo (le type de cycle utilisé, le nombre de tours par minute, la résistance, la puissance, la fréquence cardiaque, *etc.*) que la course à pied (vitesse, pente du tapis roulant, la fréquence cardiaque, *etc.*). Ce travail renforce également l'importance de choisir les outils de mesure adaptés à la cible que l'on souhaite évaluer. En effet, afin de déterminer la masse grasse totale, l'outil de référence est le DXA alors que pour mesurer la masse grasse abdominale, et surtout viscérale, des méthodes plus précises comme le CT-scan (ou IRM) sont à privilégier. Dans cette méta-analyse, l'HIIT impacte de la même façon la composition corporelle aussi bien chez les hommes que les femmes. Toutefois, étant donné qu'à la ménopause ou selon le type de contraception orale, les réponses à l'exercice peuvent être différentes (Isacco et al., 2012), il serait intéressant de déterminer si l'apparition de la ménopause pourrait interférer avec les effets de l'HIIT.

Ainsi, en complément de cette première méta-analyse, nous avons voulu établir dans une seconde méta-analyse l'impact potentiel d'un programme HIIT sur les variations de poids, masse grasse totale abdominale et viscérale en fonction du statut hormonal (pré-post ménopause). Dans ce troisième article, malgré le faible effectif total analysé (18 études incluant 330 sujets), nous avons encore une fois montré l'efficacité d'un entraînement de type HIIT pour réduire la masse grasse abdominale et cela quel que soit le statut pondéral et hormonal des femmes.

Enfin, afin de s'affranchir de toutes variabilités individuelles, nous avons réalisé un cross-over à partir de l'étude n°1. Les résultats obtenus sont en accord avec les précédents travaux présentés, soit une réduction du tissu adipeux viscéral avec la modalité HIIT uniquement.

A travers ces différents travaux, nous avons montré et confirmé l'efficacité du HIIT à réduire la masse grasse abdominale totale et viscérale. De plus, certaines études ont montré que les patients avaient une préférence pour cette modalité en raison de son côté ludique et « time-efficient » (Bartlett et al., 2011; Jung et al., 2014), ce qui renforce l'adhésion et la compliance des sujets au protocole. Toutefois, le plaisir pour ce type d'entraînement diminue lorsque que l'intervalle d'effort augmente. Un temps d'effort égal à celui de récupération semble être nécessaire et optimal pour une perception positive de l'exercice pendant et après sa réalisation (Martinez et al., 2015). En outre de l'aspect recherche, dans le domaine des sciences et techniques des activités physiques et sportives (STAPS), ces études permettent de mettre à disposition des protocoles détaillés permettant d'optimiser la prise en charge des

patients en surpoids et/ou obèses ainsi que de mettre en avant les outils adaptés à l'évaluation des protocoles établis.

Lors de l'élaboration du protocole clinique sur la femme ménopausée diabétique de type 2, nous n'avions pas connaissance de l'importance potentiel du microbiote intestinal sur le tissu adipeux. Pour cela, une étude incluse dans une future thèse visant à étudier pour la première fois l'effet d'un entraînement HIIT sur la masse grasse totale, abdominale dont viscérale et le microbiote intestinal (en synergie ou non avec un complément alimentaire à base d'extrait végétaux) chez 72 sujets durant 12 semaines sera menée. En parallèle, ce projet inclura une étude fondamentale qui permettra d'étudier les mécanismes sous-jacents à de telles adaptations.

Des visées thérapeutiques cliniques peuvent également être envisagées dans le cadre de la MC. En effet, ces patients sont caractérisés par la présence d'une grande quantité de tissu adipeux méésentérique, appelé dans ce contexte « creeping fat ». Ce tissu adipeux est à l'origine d'une boucle d'amplification de l'inflammation (Peyrin-Biroulet et al., 2007). En s'appuyant sur les données de nos précédentes études montrant l'efficacité du HIIT pour réduire la masse grasse viscérale, cette modalité déjà testée chez des enfants MC (Ploeger et al., 2012) s'avère prometteuse. Un protocole visant à comparer l'effet de deux modalités d'exercice (HIIT vs. MICT) sur la capacité respiratoire, l'IMC, la qualité de vie, ainsi que les marqueurs de l'activité de la maladie (la calprotectine fécale et le CDAI (« Le Crohn's Disease Activity Index ») chez des patients atteints d'une MC inactive ou moyennement active est d'ailleurs en cours par l'équipe de (Tew et al., 2017). Nous aimerions à plus long terme réaliser un protocole similaire, mais en analysant le microbiote intestinal ainsi que la masse grasse viscérale afin de confirmer nos données obtenues chez l'animal chez l'Homme. L'avantage du HIIT est que de par une infinité de combinaisons possibles, cette modalité peut être appliquée et adaptée à de nombreuses pathologies (voire personnalisée suivant les préférences et possibilités des patients). Nous pourrions mettre en évidence la modalité la plus adaptée en fonction des cycles de la pathologie (période de rémission, pré et post opératoire etc.).

Comprendre les mécanismes responsables de la perte de masse grasse totale, abdominale mais surtout viscérale suite à un entraînement de type HIIT

A l'heure actuelle, les mécanismes post-HIIT favorisant une perte importante de masse grasse totale et surtout viscérale ne sont pas totalement élucidés. La littérature suggère que le HIIT provoque une plus grande mobilisation des lipides durant l'effort en raison d'une grande libération de catécholamines (Trapp et al., 2007). Ces lipides ne seraient oxydés qu'après l'effort, en raison d'une plus grande consommation d'oxygène post-exercice. Une récente étude au laboratoire s'est intéressée à l'utilisation des substrats énergétiques après 3 mois d'entraînement (HIIT, ou HIIT + renforcement musculaire ou MICT) chez des femmes en surpoids ou obèses ménopausées. Pour évaluer ce paramètre un test sur bicyclette de 40 minutes à 50% de la VO_2 max a été réalisé suivi de 20 minutes de récupération. Les résultats ont montré toutes modalités confondues une diminution du quotient respiratoire à l'exercice d'intensité modérée et en récupération témoignant ainsi d'une augmentation de l'oxydation lipidique et de la part des lipides dans la fourniture d'énergie. A partir des hypothèses précédemment avancées et des résultats obtenus dans notre laboratoire, il aurait été intéressant dans notre première étude de mesurer pendant et dans les 30 minutes suivant un exercice de type MICT et HIIT, les niveaux plasmatiques de catécholamines (noradrénaline et adrénaline par HPLC), et les échanges gazeux (CO_2 et O_2).

Afin d'expliquer, la perte de masse grasse spécifique au niveau abdominal et plus particulièrement viscéral, l'hypothèse principale repose sur la plus grande quantité de récepteurs β -adrénergiques dans le tissu adipeux viscéral par rapport au tissu adipeux sous cutané (Rebuffé-Scrive et al., 1989). Cependant, chez l'humain, l'accès au tissu adipeux viscéral étant limité, il est compliqué d'étudier les mécanismes sous-jacents. De ce fait, afin d'approfondir les hypothèses avancées en clinique, nous nous sommes orientés sur l'animal, et plus précisément sur le rat Zucker. Conformément à nos attentes, chez le rat Zucker, l'entraînement de type HIIT réduit la masse grasse viscérale alors qu'aucun effet n'est à noter suite à l'entraînement MICT. A partir de ce constat et des données de la littérature, nous avons analysé le microbiote intestinal. Contrairement à nos hypothèses, un entraînement HIIT ou MICT de 10 semaines (5 fois par semaine) ne modifie ni l' α -diversité, ni la β -diversité. Ce résultat n'est pas habituel dans la littérature car généralement la richesse et la fonction bactérienne sont améliorées par une activité physique régulière aussi bien chez l'animal que

l'homme. En parallèle, à partir de nos hypothèses avancées en clinique, nous avons étudié la voie de la lipolyse via l'analyse des récepteurs adrénérgiques, ainsi que de la lipase hormonosensible phosphorylée. De façon intéressante, nous avons montré que seul l'entraînement de type HIIT augmente le rapport des récepteurs adrénérgiques en faveur d'une activité anti-lipolytique. Ainsi, une plus grande capacité du tissu adipeux-sous-cutané à stocker l'excédent d'énergie permet d'éviter les dépôts ectopiques de masse grasse, y compris le développement du tissu adipeux viscéral (Leyvraz et al., 2008). Afin d'approfondir cet axe de recherche d'un point de vue clinique, nous pourrions juger de l'effet d'une session ou d'un programme HIIT sur la lipolyse dans le tissu adipeux sous-cutané de patients par la technique de microdialyse. Si l'effet de l'intensité a déjà été étudié par cette technique (Moro et al., 2007, 2008), à notre connaissance aucune donnée n'est disponible concernant le HIIT.

Dans notre étude, l'absence de modulation du microbiote intestinal après l'entraînement pourrait être liée au modèle animal utilisé. En effet, même si le rat Zucker doublement récessif (*fa/fa*) pour le récepteur à la leptine, est un bon modèle d'obésité (Kleinert et al., 2018), il s'agit d'un modèle mono-génique et qui donc ne prend pas en compte le caractère multifactoriel de la pathologie. De plus, la leptine étant une hormone régulant le métabolisme énergétique, l'utilisation d'animaux leptino-résistants induit peut-être un biais dans l'investigation des mécanismes. Afin de confirmer nos résultats, il serait alors intéressant d'étudier l'effet de l'HIIT dans d'autres modèles murins. L'induction d'une obésité via des rats Wistar soumis à une alimentation riche en graisses et en sucres serait une bonne alternative, reflétant le mode de vie occidental actuel.

Evaluer l'effet de l'activité physique en prévention secondaire dans un modèle d'inflammation intestinale chronique : la maladie de Crohn

Ce travail a montré que l'activité physique pouvait moduler favorablement le microbiote intestinal via l'augmentation de genres impliqués dans la production de butyrate comme *Oscillospira*. En accord avec ces modifications, une plus grande quantité de butyrate a été mesurée dans les selles des souris du groupe disposant d'une roue d'activité physique spontanée. Cette plus grande quantité de butyrate peut alors expliquer l'augmentation d'expression des protéines des jonctions serrées (ZO-1 et occludine). Cette amélioration de la perméabilité intestinale pourrait participer à la réduction l'endotoxémie métabolique fortement impliquée dans l'inflammation et l'insulino-résistance. Dans cette étude,

l'augmentation du butyrate et la diminution du LPS circulant pourraient expliquer la réduction du tissu adipeux mésentérique caractérisant la MC via son association à l'inflammation intestinale. De plus, nous avons mis en évidence une corrélation négative entre le butyrate et le tissu adipeux mésentérique. Etant donné la controverse exposée dans la littérature concernant l'effet du butyrate sur la masse grasse, il serait intéressant de réaliser suite à une activité physique spontanée des incubations de tissu adipeux en présence de butyrate au repos et sous la stimulation des récepteurs adrénergiques. L'étude des voies lipolytiques et de la lipogénèse pourrait apporter les réponses mécanistiques recherchées sur les interactions entre l'intestin et le tissu adipeux suite à la pratique d'une activité physique.

Pour cette seconde étude menée chez l'animal de laboratoire, nous avons utilisé le modèle de souris CEABAC10 développé au laboratoire M2ISH. Ce modèle de souris transgénique humanisée exprime le récepteur humain CEACAM6 au niveau intestinal, permettant la colonisation de la muqueuse par des souches AIEC (souche AIEC LF82 utilisée dans l'étude) qui sont fortement impliqués dans la MC. De précédents travaux au laboratoire ont montré qu'une alimentation de type occidentale exacerbe l'inflammation induite par la souche AIEC L82. Bien qu'il n'existe pas de modèles parfaits, ce modèle apparaît bien adapté à l'exploration de la MC via l'association des différents facteurs impliqués dans l'étiologie de la MC soit la susceptibilité génétique, le microbiote intestinal et le mode de vie. Néanmoins, une des limites de ce modèle est que l'expression de CEACAM6 est localisée au niveau colique dans ce modèle alors que les bactéries AIEC et l'expression anormale du récepteur CEACAM6 ont été associées aux formes iléales de la MC (Barnich et Darfeuille-Michaud, 2010; Barnich et al., 2007). De ce fait, afin de confirmer ces résultats, il serait intéressant de reproduire ce protocole dans d'autres modèles d'inflammation intestinale. Par exemple, nous pourrions utiliser le nouveau modèle murin transgénique qui est en cours de développement au laboratoire afin d'obtenir une expression de CEACAM6 dans les cellules épithéliales de l'iléon chez la souris (gène CEACAM6 sous contrôle d'un promoteur villin). Nous pourrions également reproduire le même protocole, puis transférer le microbiote des souris entraînées à des souris gnotobiotiques avant exposition bactérienne. Allen et al. ont réalisé un protocole similaire, mais en utilisant une inflammation induite chimiquement au DSS. Ces auteurs ont montré que certains genres étaient conservés dans le transfert de microbiote, et limitaient ainsi l'inflammation intestinale (Allen et al.,

2017). Ce transfert de microbiote pourrait permettre de déterminer si l'effet observé sur la composition corporelle dans notre modèle est causal et transmissible par le microbiote.

D'autre part, afin de valider les effets bénéfiques d'*Oscillospira* dans un contexte d'inflammation intestinale chronique, différentes expériences peuvent être envisagées. Après avoir isolé, cultivé la bactérie, et vérifiée son innocuité, nous pourrions utiliser cette bactérie comme probiotique de nouvelle génération afin de prévenir la survenue d'une inflammation suite à une exposition à la souche AIEC LF 82. Il serait également intéressant de comparer les effets observés à ceux obtenus avec l'activité physique. Toutefois, en raison de la grande complexité des interactions entre les bactéries ou entre les bactéries et les pathogènes, l'utilisation d'un modèle à microbiote simplifié et contrôlé aurait tout son sens. Le modèle Oligo-MM 12 (Oligo-Mouse-Microbiota), composé de 12 souches bactériennes isolées de souris, permettrait d'étudier les modulations du microbiote intestinal suite à une activité physique tout en tenant compte des interactions entre micro-organismes (Brugiroux et al., 2016). Ce modèle, disponible au laboratoire permettrait de mettre en évidence les potentielles bactéries favorisant les effets bénéfiques d'*Oscillospira* ou au contraire les bactéries empêchant son développement. *In fine*, l'étude de ces interactions pourrait aboutir à la réalisation d'un cocktail de probiotiques dont l'efficacité serait optimisée et adaptée à un plus grand nombre de patient.

Dans les périodes de crise chez les patients atteints de maladie de Crohn, la pratique d'une activité physique s'avère compliquée en raison des douleurs abdominales et de la fatigue qui y sont associées. Dans ce contexte, l'utilisation d'*Oscillospira* comme probiotique ou incluse dans un cocktail de probiotique permettrait d'atténuer les symptômes de la pathologie et de réduire la durée des crises.

Potentialiser les effets de l'activité physique dans l'interaction microbiote – tissu adipeux dans ces deux pathologies

L'alimentation jouant un rôle primordial sur le microbiote intestinal, et au vu des propriétés bénéfiques de certaines molécules, les résultats observés dans ce travail sur la composition corporelle, le métabolisme du glucose et l'inflammation dans deux modèles murins pourraient être majorés via une supplémentation nutritionnelle. Dans le cadre de la MC, des expériences préliminaires au laboratoire ont montré que le curcumin pourrait avoir

un effet inhibiteur sur la virulence des bactéries AIEC, Suite à ces données, nous avons initié un protocole consistant à déterminer si 8 semaines d'activité physique spontanée et/ou une supplémentation en curcumin, reconnue pour ces vertus anti-inflammatoires, pourrait prévenir une inflammation induite au DSS chez 40 souris mâles C57bl/6 âgées de 8 semaines. En parallèle, les oméga-3 également connus pour leurs effets anti-inflammatoires et bénéfiques sur la composition corporelle, seront testés en combinaison avec l'activité physique en s'appuyant sur des protocoles utilisés dans ce travail de thèse. Ainsi, ce nouveau projet, qui fera l'objet d'une thèse, sera réalisé dans un modèle d'obésité et de MC.

Dans le cas où les protocoles en cours ou à venir révéleraient des données intéressantes, nous pourrions envisager la combinaison de l'exercice avec du curcumin, des oméga 3 ou des probiotiques de nouvelle génération (*Oscillospira*) dans le but de potentialiser les effets bénéfiques sur l'interaction intestin-tissu adipeux. Ces avancées thérapeutiques attractives, innovantes, ayant un coût moindre et moins d'effets secondaires, pourraient être utilisées comme traitement curatif dans un contexte d'obésité et permettrait de prolonger les périodes de rémission ou de prévenir l'apparition de la pathologie chez des patients à risque dans un contexte de maladie de Crohn.

***Schéma bilan du travail de
thèse***

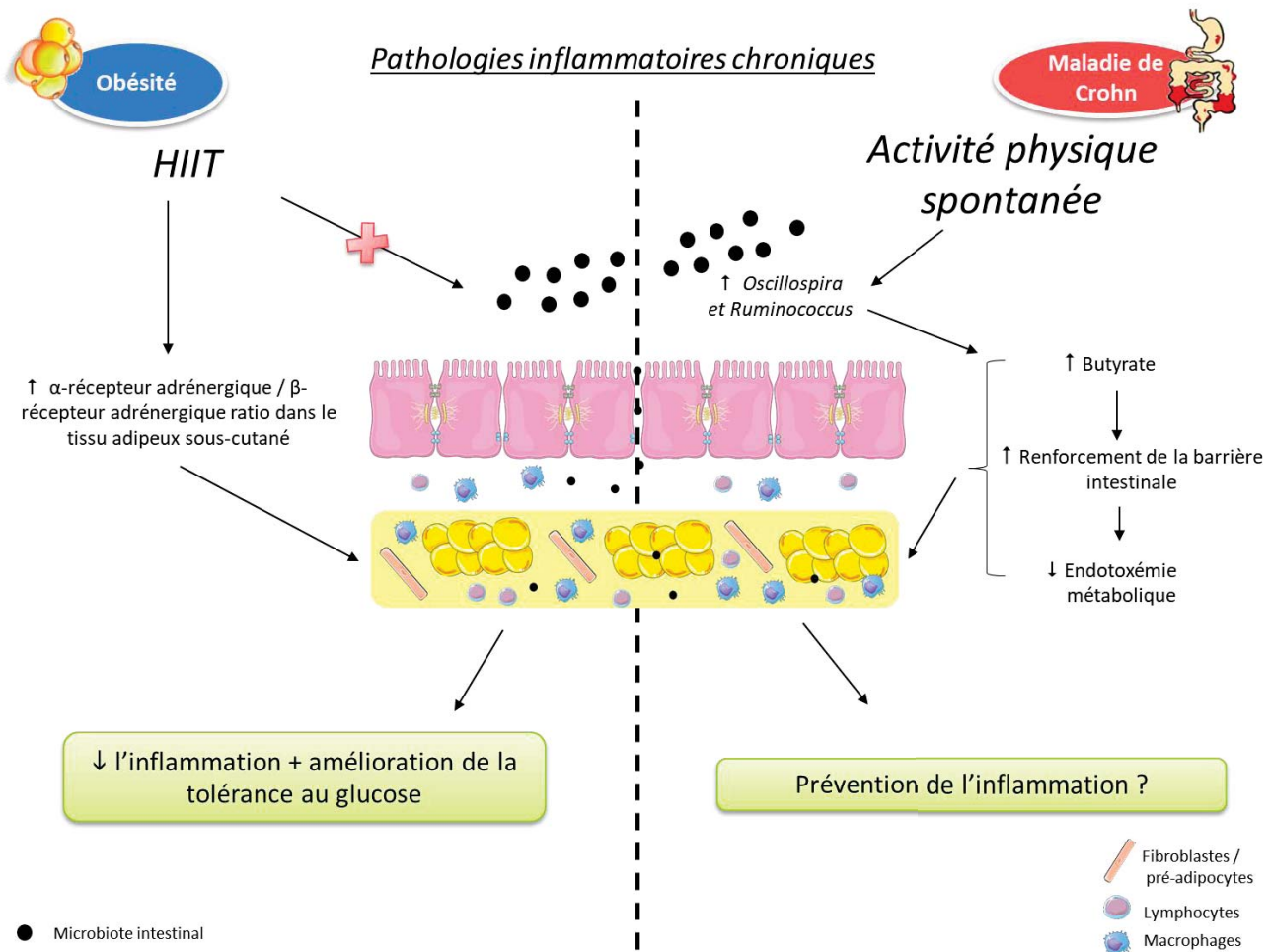


Figure 45 : Schéma bilan du travail de thèse. Les résultats de ce travail ont confirmé l'efficacité de l'entraînement intermittent de haute intensité (HIIT) pour diminuer le tissu adipeux aussi bien chez l'humain que l'animal. D'un point de vue mécanistique, si le microbiote ne s'emble pas impliqué, l'investigation de la voie de la lipolyse a montré un effet anti-lipolytique du HIIT dans le tissu adipeux sous-cutané, pouvant ainsi partiellement expliquer la diminution du tissu adipeux viscéral. Dans un modèle de MC, nos résultats mettent en évidence que l'activité physique (AP) spontanée augmente l'expression des protéines des jonctions serrées pouvant participer à la réduction de l'endotoxémie métabolique. En parallèle, l'AP spontanée favorise les bactéries bénéfiques et augmente les niveaux de butyrate dans les selles. Ces adaptations participent à la réduction du tissu adipeux viscéral mésentérique caractérisant la MC. Ainsi, l'AP, à travers différentes modalités d'exercice, se révèle comme une « thérapie » attractive et innovante dans des ceux pathologies inflammatoires chroniques.

***Références
bibliographiques***

Aberdein, N., Schweizer, M., and Ball, D. (2014). Sodium acetate decreases phosphorylation of hormone sensitive lipase in isoproterenol-stimulated 3T3-L1 mature adipocytes. *Adipocyte* 3, 121–125.

Aguirre, M., Eck, A., Koenen, M.E., Savelkoul, P.H.M., Budding, A.E., and Venema, K. (2016). Diet drives quick changes in the metabolic activity and composition of human gut microbiota in a validated in vitro gut model. *Res. Microbiol.* 167, 114–125.

Agus, A., Massier, S., Darfeuille-Michaud, A., Billard, E., and Barnich, N. (2014). Understanding host-adherent-invasive *Escherichia coli* interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies. *BioMed Res. Int.* 2014, 567929.

Agus, A., Denizot, J., Thévenot, J., Martinez-Medina, M., Massier, S., Sauvanet, P., Bernalier-Donadille, A., Denis, S., Hofman, P., Bonnet, R., et al. (2016). Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive *E. coli* infection and intestinal inflammation. *Sci. Rep.* 6, 19032.

Ahn, J., Lee, H., Kim, S., and Ha, T. (2010). Curcumin-induced suppression of adipogenic differentiation is accompanied by activation of Wnt/beta-catenin signaling. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 298, C1510-1516.

Akira, S., Uematsu, S., and Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124, 783–801.

Aldiss, P., Betts, J., Sale, C., Pope, M., and Symonds, M.E. (2017). Exercise-induced "browning" of adipose tissues. *Metabolism*.

Alex, S., Lange, K., Amolo, T., Grinstead, J.S., Haakonsson, A.K., Szalowska, E., Koppen, A., Mudde, K., Haenen, D., Al-Lahham, S. 'ad, et al. (2013). Short-Chain Fatty Acids Stimulate Angiopoietin-Like 4 Synthesis in Human Colon Adenocarcinoma Cells by Activating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ . *Mol. Cell. Biol.* 33, 1303–1316.

Alkahtani, S.A., King, N.A., Hills, A.P., and Byrne, N.M. (2013). Effect of interval training intensity on fat oxidation, blood lactate and the rate of perceived exertion in obese men. *SpringerPlus* 2, 532.

Alkahtani, S.A., Byrne, N.M., Hills, A.P., and King, N.A. (2014). Acute interval exercise intensity does not affect appetite and nutrient preferences in overweight and obese males. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 23, 232–238.

Allen, J.M., Berg Miller, M.E., Pence, B.D., Whitlock, K., Nehra, V., Gaskins, H.R., White, B.A., Fryer, J.D., and Woods, J.A. (2015). Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 118, 1059–1066.

Allen, J.M., Mailing, L.J., Cohrs, J., Salmonson, C., Fryer, J.D., Nehra, V., Hale, V.L., Kashyap, P., White, B.A., and Woods, J.A. (2017). Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* 1–16.

Allen, J.M., Mailing, L.J., Niemi, G.M., Moore, R., Cook, M.D., White, B.A., Holscher, H.D., and Woods, J.A. (2017). Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med. Sci. Sports Exerc.*

Amar, J., Chabo, C., Waget, A., Klopp, P., Vachoux, C., Bermúdez-Humarán, L.G., Smirnova, N., Bergé, M., Sulpice, T., Lahtinen, S., et al. (2011). Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol. Med.* 3, 559–572.

Ameer, F., Scanduzzi, L., Hasnain, S., Kalbacher, H., and Zaidi, N. (2014). De novo lipogenesis in health and disease. *Metabolism.* 63, 895–902.

Ananthakrishnan, A.N. (2015). Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 205–217.

Antunes, L.C.M., Han, J., Ferreira, R.B.R., Lolić, P., Borchers, C.H., and Finlay, B.B. (2011). Effect of antibiotic treatment on the intestinal metabolome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 1494–1503.

Aouadi, M., Tencerova, M., Vangala, P., Yawe, J.C., Nicoloso, S.M., Amano, S.U., Cohen, J.L., and Czech, M.P. (2013). Gene silencing in adipose tissue macrophages regulates whole-body metabolism in obese mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 8278–8283.

Arad, A.D., DiMenna, F.J., Thomas, N., Tamis-Holland, J., Weil, R., Geliebter, A., and Albu, J.B. (2015). High-intensity interval training without weight loss improves exercise but not basal or insulin-induced metabolism in overweight/obese African American women. *J. Appl. Physiol.* 119, 352–362.

Arbolea, S., Sánchez, B., Solís, G., Fernández, N., Suárez, M., Hernández-Barranco, A.M., Milani, C., Margolles, A., de Los Reyes-Gavilán, C.G., Ventura, M., et al. (2016). Impact of Prematurity and Perinatal Antibiotics on the Developing Intestinal Microbiota: A Functional Inference Study. *Int. J. Mol. Sci.* 17.

Arner, P. (1997). Regional adiposity in man. *J. Endocrinol.* 155, 191–192.

Aronsson, L., Huang, Y., Parini, P., Korach-André, M., Håkansson, J., Gustafsson, J.-Å., Pettersson, S., Arulampalam, V., and Rafter, J. (2010). Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One* 5.

Astorino, T.A., and Thum, J.S. (2016). Interval training elicits higher enjoyment versus moderate exercise in persons with spinal cord injury. *J. Spinal Cord Med.* 1–8.

Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., et al. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331, 337–341.

Azuma, K., and Matsumoto, H. (2017). Potential Universal Application of High-intensity Interval Training from Athletes and Sports Lovers to Patients. *Keio J. Med.* 66, 19–24.

Azuma, K., Ouchi, Y., and Inoue, S. (2014). Vitamin K: novel molecular mechanisms of action and its roles in osteoporosis. *Geriatr. Gerontol. Int.* *14*, 1–7.

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., and Gordon, J.I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *101*, 15718–15723.

Bäckhed, F., Manchester, J.K., Semenkovich, C.F., and Gordon, J.I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *104*, 979–984.

Barbalho, S.M., Goulart, R. de A., Quesada, K., Bechara, M.D., and de Carvalho, A. de C.A. (2016). Inflammatory bowel disease: can omega-3 fatty acids really help? *Ann. Gastroenterol. Q. Publ. Hell. Soc. Gastroenterol.* *29*, 37–43.

Barnich, N., and Darfeuille-Michaud, A. (2010). Abnormal CEACAM6 expression in Crohn disease patients favors gut colonization and inflammation by adherent-invasive *E. coli*. *Virulence* *1*, 281–282.

Barnich, N., Carvalho, F.A., Glasser, A.-L., Darcha, C., Jantscheff, P., Allez, M., Peeters, H., Bommelaer, G., Desreumaux, P., Colombel, J.-F., et al. (2007). CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J. Clin. Invest.* *117*, 1566–1574.

Barnich, N., Denizot, J., and Darfeuille-Michaud, A. (2013). *E. coli*-mediated gut inflammation in genetically predisposed Crohn's disease patients. *Pathol. Biol. (Paris)* *61*, e65-69.

Bartlett, J.D., Close, G.L., MacLaren, D.P.M., Gregson, W., Drust, B., and Morton, J.P. (2011). High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. *J. Sports Sci.* *29*, 547–553.

Barton, W., Penney, N.C., Cronin, O., Garcia-Perez, I., Molloy, M.G., Holmes, E., Shanahan, F., Cotter, P.D., and O'Sullivan, O. (2017). The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level. *Gut*.

Batacan, R.B., Fenning, A.S., Dalbo, V.J., Scanlan, A.T., Duncan, M.J., Moore, R.J., and Stanley, D. (2017). A gut reaction: the combined influence of exercise and diet on gastrointestinal microbiota in rats. *J. Appl. Microbiol.* *122*, 1627–1638.

Batra, A., Heimesaat, M.M., Bereswill, S., Fischer, A., Glauben, R., Kunkel, D., Scheffold, A., Erben, U., Kühl, A., Loddenkemper, C., et al. (2012). Mesenteric fat - control site for bacterial translocation in colitis? *Mucosal Immunol.* *5*, 580–591.

Baumgart, D.C., and Sandborn, W.J. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet Lond. Engl.* *369*, 1641–1657.

- Beaumont, M., Goodrich, J.K., Jackson, M.A., Yet, I., Davenport, E.R., Vieira-Silva, S., Debelius, J., Pallister, T., Mangino, M., Raes, J., et al. (2016). Heritable components of the human fecal microbiome are associated with visceral fat. *Genome Biol.* *17*.
- Begley, M., Gahan, C.G.M., and Hill, C. (2005). The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol. Rev.* *29*, 625–651.
- Belluzzi, A., Boschi, S., Brignola, C., Munarini, A., Cariani, G., and Miglio, F. (2000). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory bowel disease. *Am. J. Clin. Nutr.* *71*, 339S–42S.
- Benoit, V., Valette, A., Mercier, L., Meignen, J.M., and Boyer, J. (1982). Potentiation of epinephrine-induced lipolysis in fat cells from estrogen-treated rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *109*, 1186–1191.
- Bergman, E.N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* *70*, 567–590.
- Bermon, S., Petriz, B., Kajéniené, A., Prestes, J., Castell, L., and Franco, O.L. (2015). The microbiota: an exercise immunology perspective. *Exerc. Immunol. Rev.* *21*, 70–79.
- Berndt, J., Kovacs, P., Ruschke, K., Klötting, N., Fasshauer, M., Schön, M.R., Körner, A., Stumvoll, M., and Blüher, M. (2007). Fatty acid synthase gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* *50*, 1472–1480.
- Bertin, B., Desreumaux, P., and Dubuquoy, L. (2010). Obesity, visceral fat and Crohn's disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* *13*, 574–580.
- Bilski, J., Brzozowski, B., Mazur-Bialy, A., Sliwowski, Z., and Brzozowski, T. (2014). The role of physical exercise in inflammatory bowel disease. *BioMed Res. Int.* *2014*, 429031.
- Bilski, J., Mazur-Bialy, A.I., Brzozowski, B., Magierowski, M., Jasnós, K., Krzysiek-Maczka, G., Urbanczyk, K., Ptak-Belowska, A., Zwolinska-Wcislo, M., Mach, T., et al. (2015). Moderate exercise training attenuates the severity of experimental rodent colitis: the importance of crosstalk between adipose tissue and skeletal muscles. *Mediators Inflamm.* *2015*, 605071.
- Blachier, F., Mariotti, F., Huneau, J.F., and Tomé, D. (2007). Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. *Amino Acids* *33*, 547–562.
- Bolinder, J., Kager, L., Ostman, J., and Arner, P. (1983). Differences at the receptor and postreceptor levels between human omental and subcutaneous adipose tissue in the action of insulin on lipolysis. *Diabetes* *32*, 117–123.
- Bonora, E., Cigolini, M., Bosello, O., Zancanaro, C., Capretti, L., Zavaroni, I., Coscelli, C., and Butturini, U. (1984). Lack of effect of intravenous metformin on plasma concentrations of glucose, insulin, C-peptide, glucagon and growth hormone in non-diabetic subjects. *Curr. Med. Res. Opin.* *9*, 47–51.

- Borgeraas, H., Johnson, L.K., Skattebu, J., Hertel, J.K., and Hjelmessaeth, J. (2017). Effects of probiotics on body weight, body mass index, fat mass and fat percentage in subjects with overweight or obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.*
- Børsheim, E., and Bahr, R. (2003). Effect of exercise intensity, duration and mode on post-exercise oxygen consumption. *Sports Med.* 33, 1037–1060.
- Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M.P., Korde, A., Ye, L., Lo, J.C., Rasbach, K.A., Boström, E.A., Choi, J.H., Long, J.Z., et al. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481, 463–468.
- Boulangé, C.L., Neves, A.L., Chilloux, J., Nicholson, J.K., and Dumas, M.-E. (2016). Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 8, 42.
- Boutagy, N.E., McMillan, R.P., Frisard, M.I., and Hulver, M.W. (2016). Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie* 124, 11–20.
- Boutcher, S.H. (2011). High-intensity intermittent exercise and fat loss. *J. Obes.* 2011, 868305.
- Boyd, J.C., Simpson, C.A., Jung, M.E., and Gurd, B.J. (2013). Reducing the intensity and volume of interval training diminishes cardiovascular adaptation but not mitochondrial biogenesis in overweight/obese men. *PLoS One* 8, e68091.
- Bredella, M.A. (2017). Sex Differences in Body Composition. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1043, 9–27.
- Bressa, C., Bailén-Andrino, M., Pérez-Santiago, J., González-Soltero, R., Pérez, M., Montalvo-Lominchar, M.G., Maté-Muñoz, J.L., Domínguez, R., Moreno, D., and Larrosa, M. (2017). Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. *PLoS One* 12, e0171352.
- Brooks, G.A., and Mercier, J. (1994). Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 76, 2253–2261.
- Brugiroux, S., Beutler, M., Pfann, C., Garzetti, D., Ruscheweyh, H.-J., Ring, D., Diehl, M., Herp, S., Lötscher, Y., Hussain, S., et al. (2016). Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nat. Microbiol.* 2, 16215.
- Buchheit, M., and Laursen, P.B. (2013). High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle. Part II: anaerobic energy, neuromuscular load and practical applications. *Sports Med.* 43, 927–954.
- Buisson, A., Bringer, M.-A., Barnich, N., and Vazeille, E. (2016). Macrophages Versus *Escherichia coli*: A Decisive Fight in Crohn’s Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 22, 2943–2955.
- Buisson, A., Vazeille, E., Minet-Quinard, R., Goutte, M., Bouvier, D., Goutorbe, F., Pereira, B., Barnich, N., and Bommelaer, G. (2016). Faecal chitinase 3-like 1 is a reliable marker as accurate as faecal calprotectin in detecting endoscopic activity in adult patients with inflammatory bowel diseases. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 43, 1069–1079.

- Calder, P.C. (2015). Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim. Biophys. Acta* 1851, 469–484.
- Campos-Rodríguez, R., Godínez-Victoria, M., Arciniega-Martínez, I.M., Reséndiz-Albor, A.A., Reyna-Garfias, H., Cruz-Hernández, T.R., and Drago-Serrano, M.E. (2016). Protective Effect of Moderate Exercise for BALB/c Mice with Salmonella Typhimurium Infection. *Int. J. Sports Med.* 37, 63–70.
- Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A.M., Fava, F., Tuohy, K.M., Chabo, C., et al. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56, 1761–1772.
- Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M., and Burcelin, R. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 57, 1470–1481.
- Cani, P.D., Osto, M., Geurts, L., and Everard, A. (2012). Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes* 3, 279–288.
- Cani, P.D., Plovier, H., Van Hul, M., Geurts, L., Delzenne, N.M., Druart, C., and Everard, A. (2016). Endocannabinoids--at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nat. Rev. Endocrinol.* 12, 133–143.
- Cao, Y., Shen, J., and Ran, Z.H. (2014). Association between Faecalibacterium prausnitzii Reduction and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis and Systematic Review of the Literature. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2014, 872725.
- Capostagno, B., and Bosch, A. (2010). Higher fat oxidation in running than cycling at the same exercise intensities. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 20, 44–55.
- Carraro, E., Schilirò, T., Biorci, F., Romanazzi, V., Degan, R., Buonocore, D., Verri, M., Dossena, M., Bonetta, S., and Gilli, G. (2018). Physical Activity, Lifestyle Factors and Oxidative Stress in Middle Age Healthy Subjects. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15.
- Carvalho, F.A., Barnich, N., Sauvanet, P., Darcha, C., Gelot, A., and Darfeuille-Michaud, A. (2008). Crohn's disease-associated Escherichia coli LF82 aggravates colitis in injured mouse colon via signaling by flagellin. *Inflamm. Bowel Dis.* 14, 1051–1060.
- Carvalho, F.A., Barnich, N., Sivignon, A., Darcha, C., Chan, C.H.F., Stanners, C.P., and Darfeuille-Michaud, A. (2009). Crohn's disease adherent-invasive Escherichia coli colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *J. Exp. Med.* 206, 2179–2189.
- Cerdá, B., Pérez, M., Pérez-Santiago, J.D., Tornero-Aguilera, J.F., González-Soltero, R., and Larrosa, M. (2016). Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefits of Physical Exercise in Health? *Front. Physiol.* 7, 51.

Chambers, E.S., Viardot, A., Psichas, A., Morrison, D.J., Murphy, K.G., Zac-Varghese, S.E.K., MacDougall, K., Preston, T., Tedford, C., Finlayson, G.S., et al. (2015). Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* *64*, 1744–1754.

Chambers, E.S., Morrison, D.J., and Frost, G. (2015). Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proc. Nutr. Soc.* *74*, 328–336.

Charrier, C., Duncan, G.J., Reid, M.D., Rucklidge, G.J., Henderson, D., Young, P., Russell, V.J., Aminov, R.I., Flint, H.J., and Louis, P. (2006). A novel class of CoA-transferase involved in short-chain fatty acid metabolism in butyrate-producing human colonic bacteria. *Microbiol. Read. Engl.* *152*, 179–185.

Charrière, G., Cousin, B., Arnaud, E., André, M., Bacou, F., Penicaud, L., and Casteilla, L. (2003). Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J. Biol. Chem.* *278*, 9850–9855.

Chassaing, B., Rolhion, N., de Vallée, A., Salim, S.Y., Prorok-Hamon, M., Neut, C., Campbell, B.J., Söderholm, J.D., Hugot, J.-P., Colombel, J.-F., et al. (2011). Crohn disease--associated adherent-invasive *E. coli* bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. *J. Clin. Invest.* *121*, 966–975.

Choi, J.J., Eum, S.Y., Rampersaud, E., Daunert, S., Abreu, M.T., and Toborek, M. (2013). Exercise Attenuates PCB-Induced Changes in the Mouse Gut Microbiome. *Environ. Health Perspect.* *121*, 725–730.

Christiaens, V., and Lijnen, H.R. (2010). Angiogenesis and development of adipose tissue. *Mol. Cell. Endocrinol.* *318*, 2–9.

Chusyd, D.E., Wang, D., Huffman, D.M., and Nagy, T.R. (2016). Relationships between Rodent White Adipose Fat Pads and Human White Adipose Fat Depots. *Front. Nutr.* *3*.

Cinti, S. (2012). The adipose organ at a glance. *Dis. Model. Mech.* *5*, 588–594.

Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A.S., and Obin, M.S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* *46*, 2347–2355.

Cipriani, S., Mencarelli, A., Chini, M.G., Distrutti, E., Renga, B., Bifulco, G., Baldelli, F., Donini, A., and Fiorucci, S. (2011). The Bile Acid Receptor GPBAR-1 (TGR5) Modulates Integrity of Intestinal Barrier and Immune Response to Experimental Colitis. *PLoS ONE* *6*.

Claesson, M.J., Jeffery, I.B., Conde, S., Power, S.E., O'Connor, E.M., Cusack, S., Harris, H.M.B., Coakley, M., Lakshminarayanan, B., O'Sullivan, O., et al. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* *488*, 178–184.

Clarke, S.F., Murphy, E.F., O'Sullivan, O., Lucey, A.J., Humphreys, M., Hogan, A., Hayes, P., O'Reilly, M., Jeffery, I.B., Wood-Martin, R., et al. (2014). Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut* *63*, 1913–1920.

Codella, R., Luzi, L., and Terruzzi, I. (2017). Exercise has the guts: How physical activity may positively modulate gut microbiota in chronic and immune-based diseases. *Dig. Liver Dis. Off. J. Ital. Soc. Gastroenterol. Ital. Assoc. Study Liver*.

Coffey, J.C., and O'Leary, D.P. (2016). The mesentery: structure, function, and role in disease. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* *1*, 238–247.

Colman, R.J., and Rubin, D.T. (2014). Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Crohns Colitis* *8*, 1569–1581.

Connelly, T.M., Juza, R.M., Sangster, W., Sehgal, R., Tappouni, R.F., and Messaris, E. (2014). Volumetric fat ratio and not body mass index is predictive of ileocelectomy outcomes in Crohn's disease patients. *Dig. Surg.* *31*, 219–224.

Cook, M.D., Martin, S.A., Williams, C., Whitlock, K., Wallig, M.A., Pence, B.D., and Woods, J.A. (2013). Forced treadmill exercise training exacerbates inflammation and causes mortality while voluntary wheel training is protective in a mouse model of colitis. *Brain. Behav. Immun.* *33*, 46–56.

Cornier, M.-A., Després, J.-P., Davis, N., Grossniklaus, D.A., Klein, S., Lamarche, B., Lopez-Jimenez, F., Rao, G., St-Onge, M.-P., Towfighi, A., et al. (2011). Assessing adiposity: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* *124*, 1996–2019.

Costantini, L., Molinari, R., Farinon, B., and Merendino, N. (2017). Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *Int. J. Mol. Sci.* *18*.

Côté, M., Matias, I., Lemieux, I., Petrosino, S., Alméras, N., Després, J.-P., and Di Marzo, V. (2007). Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. *Int. J. Obes.* *2005* *31*, 692–699.

Couch, D.G., Maudslay, H., Doleman, B., Lund, J.N., and O'Sullivan, S.E. (2018). The Use of Cannabinoids in Colitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Inflamm. Bowel Dis.* *24*, 680–697.

Craig, C.L., Marshall, A.L., Sjöström, M., Bauman, A.E., Booth, M.L., Ainsworth, B.E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J.F., et al. (2003). International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med. Sci. Sports Exerc.* *35*, 1381–1395.

Creely, S.J., McTernan, P.G., Kusminski, C.M., Fisher, M., Da Silva, N.F., Khanolkar, M., Evans, M., Harte, A.L., and Kumar, S. (2007). Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *292*, E740-747.

Crohn, B.B., Ginzburg, L., and Oppenheimer, G.D. (2000). Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *1932. Mt. Sinai J. Med. N. Y.* *67*, 263–268.

- Cronin, O., O'Sullivan, O., Barton, W., Cotter, P.D., Molloy, M.G., and Shanahan, F. (2017). Gut microbiota: implications for sports and exercise medicine. *Br. J. Sports Med.* *51*, 700–701.
- Cui, B., Feng, Q., Wang, H., Wang, M., Peng, Z., Li, P., Huang, G., Liu, Z., Wu, P., Fan, Z., et al. (2015). Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *30*, 51–58.
- Cummings, J.H., and Macfarlane, G.T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* *70*, 443–459.
- Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P., and Macfarlane, G.T. (1987). Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* *28*, 1221–1227.
- Cunha, F.A., Midgley, A.W., McNaughton, L.R., and Farinatti, P.T.V. (2016). Effect of continuous and intermittent bouts of isocaloric cycling and running exercise on excess postexercise oxygen consumption. *J. Sci. Med. Sport* *19*, 187–192.
- Cushing, E.M., Chi, X., Sylvers, K.L., Shetty, S.K., Potthoff, M.J., and Davies, B.S.J. (2017). Angiopoietin-like 4 directs uptake of dietary fat away from adipose during fasting. *Mol. Metab.* *6*, 809–818.
- Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A.B., Kuo, F.C., Palmer, E.L., Tseng, Y.-H., Doria, A., et al. (2009). Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1509–1517.
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.-L., Barnich, N., Bringer, M.-A., Swidsinski, A., Beaugerie, L., and Colombel, J.-F. (2004). High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* *127*, 412–421.
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., et al. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* *505*, 559–563.
- Davies, C.T., Few, J., Foster, K.G., and Sargeant, A.J. (1974). Plasma catecholamine concentration during dynamic exercise involving different muscle groups. *Eur. J. Appl. Physiol.* *32*, 195–206.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J.B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., and Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 14691–14696.
- De Koning, L., Merchant, A.T., Pogue, J., and Anand, S.S. (2007). Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur. Heart J.* *28*, 850–856.

De la Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N.T., Corrales-Agudelo, V., Velásquez-Mejía, E.P., Carmona, J.A., Abad, J.M., and Escobar, J.S. (2017). Metformin Is Associated With Higher Relative Abundance of Mucin-Degrading *Akkermansia muciniphila* and Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in the Gut. *Diabetes Care* 40, 54–62.

De Oliveira, E.P., and Burini, R.C. (2009). The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 12, 533–538.

De Schryver, A.M., Keulemans, Y.C., Peters, H.P., Akkermans, L.M., Smout, A.J., De Vries, W.R., and van Berge-Henegouwen, G.P. (2005). Effects of regular physical activity on defecation pattern in middle-aged patients complaining of chronic constipation. *Scand. J. Gastroenterol.* 40, 422–429.

De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchamp, A., Bäckhed, F., and Mithieux, G. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 156, 84–96.

Denizot, J., Sivignon, A., Barreau, F., Darcha, C., Chan, H.F.C., Stanners, C.P., Hofman, P., Darfeuille-Michaud, A., and Barnich, N. (2012). Adherent-invasive *Escherichia coli* induce claudin-2 expression and barrier defect in CEABAC10 mice and Crohn's disease patients. *Inflamm. Bowel Dis.* 18, 294–304.

Denou, E., Marcinko, K., Surette, M.G., Steinberg, G.R., and Schertzer, J.D. (2016). High-intensity exercise training increases the diversity and metabolic capacity of the mouse distal gut microbiota during diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 310, E982–993.

Derwa, Y., Gracie, D.J., Hamlin, P.J., and Ford, A.C. (2017). Systematic review with meta-analysis: the efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 46, 389–400.

Després, J.-P., and Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444, 881–887.

Desreumaux, P., Ernst, O., Geboes, K., Gambiez, L., Berrebi, D., Müller-Alouf, H., Hafraoui, S., Emilie, D., Ectors, N., Peuchmaur, M., et al. (1999). Inflammatory alterations in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gastroenterology* 117, 73–81.

D'Inca, R., Varnier, M., Mestriner, C., Martines, D., D'Odorico, A., and Sturniolo, G.C. (1999). Effect of moderate exercise on Crohn's disease patients in remission. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* 31, 205–210.

Ding, Z., Wu, X.-R., Remer, E.M., Lian, L., Stocchi, L., Li, Y., McCullough, A., Remzi, F.H., and Shen, B. (2016). Association between high visceral fat area and postoperative complications in patients with Crohn's disease following primary surgery. *Colorectal Dis. Off. J. Assoc. Coloproctology G. B. Irel.* 18, 163–172.

Donnelly, J.E., Blair, S.N., Jakicic, J.M., Manore, M.M., Rankin, J.W., Smith, B.K., and American College of Sports Medicine (2009). American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med. Sci. Sports Exerc.* *41*, 459–471.

Dorneles, G.P., Haddad, D.O., Fagundes, V.O., Vargas, B.K., Kloecker, A., Romão, P.R.T., and Peres, A. (2016). High intensity interval exercise decreases IL-8 and enhances the immunomodulatory cytokine interleukin-10 in lean and overweight-obese individuals. *Cytokine* *77*, 1–9.

Drouet, M., Dubuquoy, L., Desreumaux, P., and Bertin, B. (2012). Visceral fat and gut inflammation. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif* *28*, 113–117.

Duncan, R.E., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E., and Sul, H.S. (2007). Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu. Rev. Nutr.* *27*, 79–101.

Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E., and Relman, D.A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* *308*, 1635–1638.

Egan, B., Carson, B.P., Garcia-Roves, P.M., Chibalin, A.V., Sarsfield, F.M., Barron, N., McCaffrey, N., Moyna, N.M., Zierath, J.R., and O’Gorman, D.J. (2010). Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *J. Physiol.* *588*, 1779–1790.

Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., and Meydani, M. (2009). Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J. Nutr.* *139*, 919–925.

Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V.E., Georgilis, K., Lonnemann, G., van der Meer, J.W., Cannon, J.G., Rogers, T.S., Klempner, M.S., and Weber, P.C. (1989). The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N. Engl. J. Med.* *320*, 265–271.

Erzin, Y., Uzun, H., Karatas, A., and Celik, A.F. (2008). Serum YKL-40 as a marker of disease activity and stricture formation in patients with Crohn’s disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *23*, e357-362.

Estaki, M., Pither, J., Baumeister, P., Little, J.P., Gill, S.K., Ghosh, S., Ahmadi-Vand, Z., Marsden, K.R., and Gibson, D.L. (2016). Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. *Microbiome* *4*, 42.

Evans, C.C., LePard, K.J., Kwak, J.W., Stancukas, M.C., Laskowski, S., Dougherty, J., Moulton, L., Glawe, A., Wang, Y., Leone, V., et al. (2014a). Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. *PloS One* *9*, e92193.

Evivie, S.E., Huo, G.-C., Igene, J.O., and Bian, X. (2017). Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. *Food Nutr. Res.* *61*, 1318034.

Feagan, B.G., Sandborn, W.J., Mittmann, U., Bar-Meir, S., D'Haens, G., Bradette, M., Cohen, A., Dallaire, C., Ponich, T.P., McDonald, J.W.D., et al. (2008). Omega-3 free fatty acids for the maintenance of remission in Crohn disease: the EPIC Randomized Controlled Trials. *JAMA* 299, 1690–1697.

Fedorenko, A., Lishko, P.V., and Kirichok, Y. (2012). Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell* 151, 400–413.

Fernandes, J., Su, W., Rahat-Rozenbloom, S., Wolever, T.M.S., and Comelli, E.M. (2014). Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutr. Diabetes* 4, e121.

Fink, C., Karagiannides, I., Bakirtzi, K., and Pothoulakis, C. (2012). Adipose tissue and inflammatory bowel disease pathogenesis. *Inflamm. Bowel Dis.* 18, 1550–1557.

Flachs, P., Horakova, O., Brauner, P., Rossmeisl, M., Pecina, P., Franssen-van Hal, N., Ruzickova, J., Sponarova, J., Drahota, Z., Vlcek, C., et al. (2005). Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia* 48, 2365–2375.

Flachs, P., Rossmeisl, M., Bryhn, M., and Kopecky, J. (2009). Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 116, 1–16.

Flint, A., Raben, A., Blundell, J.E., and Astrup, A. (2000). Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* 24, 38–48.

Forslund, K., Hildebrand, F., Nielsen, T., Falony, G., Le Chatelier, E., Sunagawa, S., Prifti, E., Vieira-Silva, S., Gudmundsdottir, V., Pedersen, H.K., et al. (2015). Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* 528, 262–266.

Friedewald, W.T., Levy, R.I., and Fredrickson, D.S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18, 499–502.

Fujimura, K.E., Slusher, N.A., Cabana, M.D., and Lynch, S.V. (2010). Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 8, 435–454.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., and Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 114, 1752–1761.

Fusaro, M., Mereu, M.C., Aghi, A., Iervasi, G., and Gallieni, M. (2017). Vitamin K and bone. *Clin. Cases Miner. Bone Metab. Off. J. Ital. Soc. Osteoporos. Miner. Metab. Skelet. Dis.* 14, 200–206.

- Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R.E., Martin, R.J., Lefevre, M., Cefalu, W.T., and Ye, J. (2009). Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes* *58*, 1509–1517.
- García-Martín, R., Alexaki, V.I., Qin, N., Rubín de Celis, M.F., Economopoulou, M., Ziogas, A., Gercken, B., Kotlabova, K., Phieler, J., Ehrhart-Bornstein, M., et al. (2015). Adipocyte-Specific Hypoxia-Inducible Factor 2 α Deficiency Exacerbates Obesity-Induced Brown Adipose Tissue Dysfunction and Metabolic Dysregulation. *Mol. Cell. Biol.* *36*, 376–393.
- Gaudier, E., Jarry, A., Blottière, H.M., de Coppet, P., Buisine, M.P., Aubert, J.P., Laboisse, C., Cherbut, C., and Hoebler, C. (2004). Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* *287*, G1168-1174.
- Ge, H., Li, X., Weiszmann, J., Wang, P., Baribault, H., Chen, J.-L., Tian, H., and Li, Y. (2008). Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids. *Endocrinology* *149*, 4519–4526.
- Geypens, B., Claus, D., Evenepoel, P., Hiele, M., Maes, B., Peeters, M., Rutgeerts, P., and Ghoo, Y. (1997). Influence of dietary protein supplements on the formation of bacterial metabolites in the colon. *Gut* *41*, 70–76.
- Gibala, M.J., and Jones, A.M. (2013). Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training. *Nestle Nutr. Inst. Workshop Ser.* *76*, 51–60.
- Gibold, L., Garenaux, E., Dalmaso, G., Gallucci, C., Cia, D., Mottet-Auselo, B., Faïs, T., Darfeuille-Michaud, A., Nguyen, H.T.T., Barnich, N., et al. (2016). The Vat-AIEC protease promotes crossing of the intestinal mucus layer by Crohn’s disease-associated *Escherichia coli*. *Cell. Microbiol.* *18*, 617–631.
- Glasser, A.L., Boudeau, J., Barnich, N., Perruchot, M.H., Colombel, J.F., and Darfeuille-Michaud, A. (2001). Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn’s disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect. Immun.* *69*, 5529–5537.
- Glickman, S.G., Marn, C.S., Supiano, M.A., and Dengel, D.R. (2004). Validity and reliability of dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of abdominal adiposity. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 *97*, 509–514.
- Goachet, A.-G., Varloud, M., Philippeau, C., and Julliand, V. (2010). Long-term effects of endurance training on total tract apparent digestibility, total mean retention time and faecal microbial ecosystem in competing Arabian horses. *Equine Vet. J. Suppl.* 387–392.
- Goffredo, M., Mass, K., Parks, E.J., Wagner, D.A., McClure, E.A., Graf, J., Savoye, M., Pierpont, B., Cline, G., and Santoro, N. (2016). Role of Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids in Modulating Energy Harvest and Fat Partitioning in Youth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *101*, 4367–4376.

Golozoubova, V., Cannon, B., and Nedergaard, J. (2006). UCP1 is essential for adaptive adrenergic nonshivering thermogenesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *291*, E350-357.

Gonçalves, P., Magro, F., and Martel, F. (2015). Metabolic inflammation in inflammatory bowel disease: crosstalk between adipose tissue and bowel. *Inflamm. Bowel Dis.* *21*, 453–467.

Gosselin, L.E., Kozlowski, K.F., DeVinney-Boymel, L., and Hambridge, C. (2012). Metabolic response of different high-intensity aerobic interval exercise protocols. *J. Strength Cond. Res.* *26*, 2866–2871.

Granata, C., Oliveira, R.S.F., Little, J.P., Renner, K., and Bishop, D.J. (2016). Training intensity modulates changes in PGC-1 α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *30*, 959–970.

Grisouard, J., Bouillet, E., Timper, K., Radimerski, T., Dembinski, K., Frey, D.M., Peterli, R., Zulewski, H., Keller, U., Müller, B., et al. (2012). Both inflammatory and classical lipolytic pathways are involved in lipopolysaccharide-induced lipolysis in human adipocytes. *Innate Immun.* *18*, 25–34.

Guerville, M., Leroy, A., Siquin, A., Laugerette, F., Michalski, M.-C., and Boudry, G. (2017). Western-diet consumption induces alteration of barrier function mechanisms in the ileum that correlates with metabolic endotoxemia in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *313*, E107–E120.

Guidoux, R., Duclos, M., Fleury, G., Lacomme, P., Lamaudière, N., Manenq, P.-H., Paris, L., Ren, L., and Rousset, S. (2014). A smartphone-driven methodology for estimating physical activities and energy expenditure in free living conditions. *J. Biomed. Inform.* *52*, 271–278.

Gummesson, A., Carlsson, L.M.S., Storlien, L.H., Bäckhed, F., Lundin, P., Löfgren, L., Stenlöf, K., Lam, Y.Y., Fagerberg, B., and Carlsson, B. (2011). Intestinal permeability is associated with visceral adiposity in healthy women. *Obes. Silver Spring Md* *19*, 2280–2282.

Gurd, B.J., Perry, C.G.R., Heigenhauser, G.J.F., Spriet, L.L., and Bonen, A. (2010). High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* *35*, 350–357.

Haglund, U. (1994). Gut ischaemia. *Gut* *35*, S73-76.

Halberg, N., Khan, T., Trujillo, M.E., Wernstedt-Asterholm, I., Attie, A.D., Sherwani, S., Wang, Z.V., Landskroner-Eiger, S., Dineen, S., Magalang, U.J., et al. (2009). Hypoxia-inducible factor 1 α induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. *Mol. Cell. Biol.* *29*, 4467–4483.

Hall, L.J., Walshaw, J., and Watson, A.J.M. (2014). Gut microbiome in new-onset Crohn's disease. *Gastroenterology* *147*, 932–934.

Hansen, R., Russell, R.K., Reiff, C., Louis, P., McIntosh, F., Berry, S.H., Mukhopadhyaya, I., Bisset, W.M., Barclay, A.R., Bishop, J., et al. (2012). Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.* *107*, 1913–1922.

Haram, P.M., Kemi, O.J., Lee, S.J., Bendheim, M.Ø., Al-Share, Q.Y., Waldum, H.L., Gilligan, L.J., Koch, L.G., Britton, S.L., Najjar, S.M., et al. (2009). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc. Res.* *81*, 723–732.

Harley, I.T.W., and Karp, C.L. (2012). Obesity and the gut microbiome: Striving for causality. *Mol. Metab.* *1*, 21–31.

Harms, M., and Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.* *19*, 1252–1263.

Harris, L.A., and Baffy, N. (2017). Modulation of the gut microbiota: a focus on treatments for irritable bowel syndrome. *Postgrad. Med.* *129*, 872–888.

Harte, A.L., Varma, M.C., Tripathi, G., McGee, K.C., Al-Daghri, N.M., Al-Attas, O.S., Sabico, S., O'Hare, J.P., Ceriello, A., Saravanan, P., et al. (2012). High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* *35*, 375–382.

He, M., and Shi, B. (2017). Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell Biosci.* *7*.

Heaton, G.M., Wagenvoord, R.J., Kemp, A., and Nicholls, D.G. (1978). Brown-adipose-tissue mitochondria: photoaffinity labelling of the regulatory site of energy dissipation. *Eur. J. Biochem.* *82*, 515–521.

Heimann, E., Nyman, M., and Degerman, E. (2014). Propionic acid and butyric acid inhibit lipolysis and de novo lipogenesis and increase insulin-stimulated glucose uptake in primary rat adipocytes. *Adipocyte* *4*, 81–88.

Hildebrandt, M.A., Hoffmann, C., Sherrill-Mix, S.A., Keilbaugh, S.A., Hamady, M., Chen, Y.-Y., Knight, R., Ahima, R.S., Bushman, F., and Wu, G.D. (2009). High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* *137*, 1716-1724-2.

Hollister, E.B., Gao, C., and Versalovic, J. (2014). Compositional and Functional Features of the Gastrointestinal Microbiome and Their Effects on Human Health. *Gastroenterology* *146*, 1449–1458.

Holloway, G.P., Bonen, A., and Spriet, L.L. (2009). Regulation of skeletal muscle mitochondrial fatty acid metabolism in lean and obese individuals. *Am. J. Clin. Nutr.* *89*, 455S–62S.

Howe, S.M., Hand, T.M., and Manore, M.M. (2014). Exercise-trained men and women: role of exercise and diet on appetite and energy intake. *Nutrients* *6*, 4935–4960.

- Hurley, J.C. (1995). Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin. Microbiol. Rev.* *8*, 268–292.
- Imhann, F., Vich Vila, A., Bonder, M.J., Fu, J., Gevers, D., Visschedijk, M.C., Spekhorst, L.M., Alberts, R., Franke, L., van Dullemen, H.M., et al. (2018). Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease. *Gut* *67*, 108–119.
- Isacco, L., Duché, P., and Boisseau, N. (2012). Influence of hormonal status on substrate utilization at rest and during exercise in the female population. *Sports Med. Auckl. NZ* *42*, 327–342.
- Isacco, L., Duche, P., Thivel, D., Meddahi-Pelle, A., Lemoine-Morel, S., Duclos, M., and Boisseau, N. (2013). Fat mass localization alters fuel oxidation during exercise in normal weight women. *Med. Sci. Sports Exerc.* *45*, 1887–1896.
- Isakson, P., Hammarstedt, A., Gustafson, B., and Smith, U. (2009). Impaired preadipocyte differentiation in human abdominal obesity: role of Wnt, tumor necrosis factor- α , and inflammation. *Diabetes* *58*, 1550–1557.
- Islam, K.B.M.S., Fukiya, S., Hagio, M., Fujii, N., Ishizuka, S., Ooka, T., Ogura, Y., Hayashi, T., and Yokota, A. (2011). Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* *141*, 1773–1781.
- Ismail, I., Keating, S.E., Baker, M.K., and Johnson, N.A. (2012). A systematic review and meta-analysis of the effect of aerobic vs. resistance exercise training on visceral fat. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *13*, 68–91.
- Item, F., and Konrad, D. (2012). Visceral fat and metabolic inflammation: the portal theory revisited. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *13 Suppl 2*, 30–39.
- Jandhyala, S.M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., and Reddy, D.N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World J. Gastroenterol. WJG* *21*, 8787–8803.
- Jeukendrup, A.E. (2017). Training the Gut for Athletes. *Sports Med. Auckl. NZ* *47*, 101–110.
- Jia, Y., Hong, J., Li, H., Hu, Y., Jia, L., Cai, D., and Zhao, R. (2017). Butyrate stimulates adipose lipolysis and mitochondrial oxidative phosphorylation through histone hyperacetylation-associated β_3 -adrenergic receptor activation in high-fat diet-induced obese mice. *Exp. Physiol.* *102*, 273–281.
- Jocken, J.W.E., González Hernández, M.A., Hoebbers, N.T.H., van der Beek, C.M., Essers, Y.P.G., Blaak, E.E., and Canfora, E.E. (2017). Short-Chain Fatty Acids Differentially Affect Intracellular Lipolysis in a Human White Adipocyte Model. *Front. Endocrinol.* *8*, 372.
- Jogl, G., Hsiao, Y.-S., and Tong, L. (2004). Structure and function of carnitine acyltransferases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1033*, 17–29.

Johansson, M.E.V., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., and Hansson, G.C. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *105*, 15064–15069.

Jones, P.D., Kappelman, M.D., Martin, C.F., Chen, W., Sandler, R.S., and Long, M.D. (2015). Exercise decreases risk of future active disease in patients with inflammatory bowel disease in remission. *Inflamm. Bowel Dis.* *21*, 1063–1071.

Joyce, S.A., and Gahan, C.G.M. (2014). The gut microbiota and the metabolic health of the host. *Curr. Opin. Gastroenterol.* *30*, 120–127.

Jung, M.E., Bourne, J.E., and Little, J.P. (2014). Where does HIT fit? An examination of the affective response to high-intensity intervals in comparison to continuous moderate- and continuous vigorous-intensity exercise in the exercise intensity-affect continuum. *PloS One* *9*, e114541.

Kabir, M., Skurnik, G., Naour, N., Pechtner, V., Meugnier, E., Rome, S., Quignard-Boulangé, A., Vidal, H., Slama, G., Clément, K., et al. (2007). Treatment for 2 mo with n 3 polyunsaturated fatty acids reduces adiposity and some atherogenic factors but does not improve insulin sensitivity in women with type 2 diabetes: a randomized controlled study. *Am. J. Clin. Nutr.* *86*, 1670–1679.

Kallio, K.A.E., Hätönen, K.A., Lehto, M., Salomaa, V., Männistö, S., and Pussinen, P.J. (2015). Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. *Acta Diabetol.* *52*, 395–404.

Kallus, S.J., and Brandt, L.J. (2012). The intestinal microbiota and obesity. *J. Clin. Gastroenterol.* *46*, 16–24.

Kang, S.S., Jeraldo, P.R., Kurti, A., Miller, M.E.B., Cook, M.D., Whitlock, K., Goldenfeld, N., Woods, J.A., White, B.A., Chia, N., et al. (2014). Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Mol. Neurodegener.* *9*, 36.

Kannel, W.B., Cupples, L.A., Ramaswami, R., Stokes, J., Kreger, B.E., and Higgins, M. (1991). Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J. Clin. Epidemiol.* *44*, 183–190.

Kapraavelou, G., Martínez, R., Andrade, A.M., Nebot, E., Camiletti-Moirón, D., Aparicio, V.A., Lopez-Jurado, M., Aranda, P., Arrebola, F., Fernandez-Segura, E., et al. (2015). Aerobic interval exercise improves parameters of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and other alterations of metabolic syndrome in obese Zucker rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* *40*, 1242–1252.

Karastergiou, K., Smith, S.R., Greenberg, A.S., and Fried, S.K. (2012). Sex differences in human adipose tissues - the biology of pear shape. *Biol. Sex Differ.* *3*, 13.

- Karelis, A.D. (2008). Metabolically healthy but obese individuals. *Lancet Lond. Engl.* 372, 1281–1283.
- Karpe, F., and Pinnick, K.E. (2015). Biology of upper-body and lower-body adipose tissue--link to whole-body phenotypes. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 90–100.
- Karstoft, K., Wallis, G.A., Pedersen, B.K., and Solomon, T.P.J. (2016). The effects of interval- vs. continuous exercise on excess post-exercise oxygen consumption and substrate oxidation rates in subjects with type 2 diabetes. *Metabolism.* 65, 1316–1325.
- Kasimay, O., Güzel, E., Gemici, A., Abdylı, A., Sulovari, A., Ercan, F., and Yeğen, B.C. (2006). Colitis-induced oxidative damage of the colon and skeletal muscle is ameliorated by regular exercise in rats: the anxiolytic role of exercise. *Exp. Physiol.* 91, 897–906.
- Kassam, Z., Lee, C.H., Yuan, Y., and Hunt, R.H. (2013). Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 108, 500–508.
- Keating, S.E., Hackett, D.A., Parker, H.M., Way, K.L., O'Connor, H.T., Sainsbury, A., Baker, M.K., Chuter, V.H., Caterson, I.D., George, J., et al. (2017). Effect of resistance training on liver fat and visceral adiposity in adults with obesity: A randomized controlled trial. *Hepatol. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hepatol.* 47, 622–631.
- Kessler, H.S., Sisson, S.B., and Short, K.R. (2012). The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sports Med.* 42, 489–509.
- Khalili, H., Ananthakrishnan, A.N., Konijeti, G.G., Liao, X., Higuchi, L.M., Fuchs, C.S., Spiegelman, D., Richter, J.M., Korzenik, J.R., and Chan, A.T. (2013). Physical activity and risk of inflammatory bowel disease: prospective study from the Nurses' Health Study cohorts. *BMJ* 347, f6633.
- Khan, K.J., Ullman, T.A., Ford, A.C., Abreu, M.T., Abadir, A., Abadir, A., Marshall, J.K., Talley, N.J., and Moayyedi, P. (2011). Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 106, 661–673.
- Khazen, W., M'bika, J.-P., Tomkiewicz, C., Benelli, C., Chany, C., Achour, A., and Forest, C. (2005). Expression of macrophage-selective markers in human and rodent adipocytes. *FEBS Lett.* 579, 5631–5634.
- Kim, K.-A., Gu, W., Lee, I.-A., Joh, E.-H., and Kim, D.-H. (2012). High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One* 7, e47713.
- Kim, K.E., Cho, Y.S., Baek, K.S., Li, L., Baek, K.-H., Kim, J.H., Kim, H.-S., and Sheen, Y.H. (2016). Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels as a biomarker of obesity-related insulin resistance in adolescents. *Korean J. Pediatr.* 59, 231–238.

- Kimura, I., Ozawa, K., Inoue, D., Imamura, T., Kimura, K., Maeda, T., Terasawa, K., Kashihara, D., Hirano, K., Tani, T., et al. (2013). The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat. Commun.* *4*, 1829.
- Kitts, D.D. (1994). Bioactive substances in food: identification and potential uses. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* *72*, 423–434.
- Klebl, F.H., Olsen, J.E., Jain, S., and Doe, W.F. (2001). Expression of macrophage-colony stimulating factor in normal and inflammatory bowel disease intestine. *J. Pathol.* *195*, 609–615.
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S.M., Moore, M.C., Renner, S., Woods, S.C., Huypens, P., Beckers, J., de Angelis, M.H., Schürmann, A., et al. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* *14*, 140–162.
- Knechtle, B., Müller, G., Willmann, F., Kotteck, K., Eser, P., and Knecht, H. (2004). Fat oxidation in men and women endurance athletes in running and cycling. *Int. J. Sports Med.* *25*, 38–44.
- Knights, D., Lassen, K.G., and Xavier, R.J. (2013). Advances in inflammatory bowel disease pathogenesis: linking host genetics and the microbiome. *Gut* *62*, 1505–1510.
- Knutson, D., Greenberg, G., and Cronau, H. (2003). Management of Crohn's disease--a practical approach. *Am. Fam. Physician* *68*, 707–714.
- Koloverou, E., Tambalis, K., Panagiotakos, D.B., Georgousopoulou, E., Chrysohoou, C., Skoumas, I., Tousoulis, D., Stefanadis, C., Pitsavos, C., and ATTICA study group (2018). Moderate physical activity reduces 10-year diabetes incidence: the mediating role of oxidative stress biomarkers. *Int. J. Public Health* *63*, 297–305.
- Kondo, T., Kishi, M., Fushimi, T., and Kaga, T. (2009). Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation. *J. Agric. Food Chem.* *57*, 5982–5986.
- Kong, Z., Fan, X., Sun, S., Song, L., Shi, Q., and Nie, J. (2016). Comparison of High-Intensity Interval Training and Moderate-to-Vigorous Continuous Training for Cardiometabolic Health and Exercise Enjoyment in Obese Young Women: A Randomized Controlled Trial. *PloS One* *11*, e0158589.
- Kootte, R.S., Levin, E., Salojärvi, J., Smits, L.P., Hartstra, A.V., Udayappan, S.D., Hermes, G., Bouter, K.E., Koopen, A.M., Holst, J.J., et al. (2017). Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition. *Cell Metab.* *26*, 611–619.e6.
- Korecka, A., de Wouters, T., Cultrone, A., Lapaque, N., Pettersson, S., Doré, J., Blottière, H.M., and Arulampalam, V. (2013). ANGPTL4 expression induced by butyrate and rosiglitazone in human intestinal epithelial cells utilizes independent pathways. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* *304*, G1025-1037.

- Kredel, L.I., and Siegmund, B. (2014). Adipose-tissue and intestinal inflammation - visceral obesity and creeping fat. *Front. Immunol.* *5*, 462.
- Kredel, L., Batra, A., and Siegmund, B. (2014). Role of fat and adipokines in intestinal inflammation. *Curr. Opin. Gastroenterol.* *30*, 559–565.
- Kreznar, J.H., Keller, M.P., Traeger, L.L., Rabaglia, M.E., Schueler, K.L., Stapleton, D.S., Zhao, W., Vivas, E.I., Yandell, B.S., Broman, A.T., et al. (2017). Host Genotype and Gut Microbiome Modulate Insulin Secretion and Diet-Induced Metabolic Phenotypes. *Cell Rep.* *18*, 1739–1750.
- Kruis, T., Batra, A., and Siegmund, B. (2014). Bacterial Translocation – Impact on the Adipocyte Compartment. *Front. Immunol.* *4*.
- Kumari, M., Heeren, J., and Scheja, L. (2018). Regulation of immunometabolism in adipose tissue. *Semin. Immunopathol.* *40*, 189–202.
- Lafontan, M. (2008). Advances in adipose tissue metabolism. *Int. J. Obes.* *2005 32 Suppl 7*, S39-51.
- Lahti, L., Salonen, A., Kekkonen, R.A., Salojärvi, J., Jalanka-Tuovinen, J., Palva, A., Orešič, M., and de Vos, W.M. (2013). Associations between the human intestinal microbiota, *Lactobacillus rhamnosus* GG and serum lipids indicated by integrated analysis of high-throughput profiling data. *PeerJ* *1*, e32.
- Lambert, J.E., Myslicki, J.P., Bomhof, M.R., Belke, D.D., Shearer, J., and Reimer, R.A. (2015). Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* *40*, 749–752.
- Lamoureux, E.V., Grandy, S.A., and Langille, M.G.I. (2017). Moderate Exercise Has Limited but Distinguishable Effects on the Mouse Microbiome. *mSystems* *2*.
- Lan, A., Bruneau, A., Bensaada, M., Philippe, C., Bellaud, P., Rabot, S., and Jan, G. (2008). Increased induction of apoptosis by *Propionibacterium freudenreichii* TL133 in colonic mucosal crypts of human microbiota-associated rats treated with 1,2-dimethylhydrazine. *Br. J. Nutr.* *100*, 1251–1259.
- Lapaquette, P., Glasser, A.-L., Huett, A., Xavier, R.J., and Darfeuille-Michaud, A. (2010). Crohn's disease-associated adherent-invasive *E. coli* are selectively favoured by impaired autophagy to replicate intracellularly. *Cell. Microbiol.* *12*, 99–113.
- Larsen, I., Welde, B., Martins, C., and Tjønnå, A.E. (2014). High- and moderate-intensity aerobic exercise and excess post-exercise oxygen consumption in men with metabolic syndrome. *Scand. J. Med. Sci. Sports* *24*, e174-179.
- Lassenius, M.I., Ahola, A.J., Harjutsalo, V., Forsblom, C., Groop, P.-H., and Lehto, M. (2016). Endotoxins are associated with visceral fat mass in type 1 diabetes. *Sci. Rep.* *6*, 38887.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J.-M., Kennedy, S., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* *500*, 541–546.

- Le Dréan, G., Haure-Mirande, V., Ferrier, L., Bonnet, C., Hulin, P., de Coppet, P., and Segain, J.-P. (2014). Visceral adipose tissue and leptin increase colonic epithelial tight junction permeability via a RhoA-ROCK-dependent pathway. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *28*, 1059–1070.
- LeBlanc, J.G., Chain, F., Martín, R., Bermúdez-Humarán, L.G., Courau, S., and Langella, P. (2017). Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microb. Cell Factories* *16*.
- Lee, H., and Ko, G. (2014). Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* *80*, 5935–5943.
- Lee, H., Park, D., and Yoon, M. (2013). Korean red ginseng (*Panax ginseng*) prevents obesity by inhibiting angiogenesis in high fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* *53*, 402–408.
- Lee, J.R., Muckerman, J.E., Wright, A.M., Davis, D.J., Childs, T.E., Gillespie, C.E., Vieira-Potter, V.J., Booth, F.W., Ericsson, A.C., and Will, M.J. (2017). Sex determines effect of physical activity on diet preference: Association of striatal opioids and gut microbiota composition. *Behav. Brain Res.* *334*, 16–25.
- Lee, S., Deldin, A.R., White, D., Kim, Y., Libman, I., Rivera-Vega, M., Kuk, J.L., Sandoval, S., Boesch, C., and Arslanian, S. (2013). Aerobic exercise but not resistance exercise reduces intrahepatic lipid content and visceral fat and improves insulin sensitivity in obese adolescent girls: a randomized controlled trial. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *305*, E1222-1229.
- Lee, Y., Jo, J., Chung, H.Y., Pothoulakis, C., and Im, E. (2016). Endocannabinoids in the gastrointestinal tract. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* *311*, G655–G666.
- Lee, Y.S., Kim, J., Osborne, O., Oh, D.Y., Sasik, R., Schenk, S., Chen, A., Chung, H., Murphy, A., Watkins, S.M., et al. (2014). Increased adipocyte O₂ consumption triggers HIF-1 α , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell* *157*, 1339–1352.
- Lemos, T., and Gallagher, D. (2017). Current body composition measurement techniques. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* *24*, 310–314.
- Letexier, D., Pinteur, C., Large, V., Fréring, V., and Beylot, M. (2003). Comparison of the expression and activity of the lipogenic pathway in human and rat adipose tissue. *J. Lipid Res.* *44*, 2127–2134.
- Levine, J.A., Jensen, M.D., Eberhardt, N.L., and O'Brien, T. (1998). Adipocyte macrophage colony-stimulating factor is a mediator of adipose tissue growth. *J. Clin. Invest.* *101*, 1557–1564.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., and Gordon, J.I. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* *444*, 1022–1023.
- Leyvraz, C., Verdumo, C., and Giusti, V. (2008). [Localization of adipose tissue: clinical implications]. *Rev. Med. Suisse* *4*, 844–847.

- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., Arumugam, M., Kultima, J.R., Prifti, E., Nielsen, T., et al. (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.* *32*, 834–841.
- Liang, H., and Ward, W.F. (2006). PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Adv. Physiol. Educ.* *30*, 145–151.
- Lichtenstein, A.H. (1990). Intestinal cholesterol metabolism. *Ann. Med.* *22*, 49–52.
- Lichtenstein, L., and Kersten, S. (2010). Modulation of plasma TG lipolysis by Angiopoietin-like proteins and GPIIb/IIIa. *Biochim. Biophys. Acta* *1801*, 415–420.
- Lichtenstein, L., Avni-Biron, I., and Ben-Bassat, O. (2016). Probiotics and prebiotics in Crohn's disease therapies. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* *30*, 81–88.
- Limketkai, B.N., Wolf, A., and Parian, A.M. (2018). Nutritional Interventions in the Patient with Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* *47*, 155–177.
- Lin, H.V., Frassetto, A., Kowalik, E.J., Nawrocki, A.R., Lu, M.M., Kosinski, J.R., Hubert, J.A., Szeto, D., Yao, X., Forrest, G., et al. (2012). Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS One* *7*, e35240.
- Little, J.P., Gillen, J.B., Percival, M.E., Safdar, A., Tarnopolsky, M.A., Punthakee, Z., Jung, M.E., and Gibala, M.J. (2011). Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J. Appl. Physiol.* *111*, 1554–1560.
- Little, T.J., Cvijanovic, N., DiPatrizio, N.V., Argueta, D.A., Rayner, C.K., Feinle-Bisset, C., and Young, R.L. (2018). Plasma endocannabinoid levels in lean, overweight and obese humans: relationships with intestinal permeability markers, inflammation and incretin secretion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*
- Liu, R., Hong, J., Xu, X., Feng, Q., Zhang, D., Gu, Y., Shi, J., Zhao, S., Liu, W., Wang, X., et al. (2017). Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nat. Med.* *23*, 859–868.
- Liu, W.-X., Wang, T., Zhou, F., Wang, Y., Xing, J.-W., Zhang, S., Gu, S.-Z., Sang, L.-X., Dai, C., and Wang, H.-L. (2015). Voluntary exercise prevents colonic inflammation in high-fat diet-induced obese mice by up-regulating PPAR- γ activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *459*, 475–480.
- Liu, Y.-H., Li, X.-Y., Chen, C.-Y., Zhang, H.-M., and Kang, J.X. (2015). Omega-3 fatty acid intervention suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation and weight loss in mice. *Mar. Drugs* *13*, 1026–1036.
- Liu, Z., Liu, H.-Y., Zhou, H., Zhan, Q., Lai, W., Zeng, Q., Ren, H., and Xu, D. (2017). Moderate-Intensity Exercise Affects Gut Microbiome Composition and Influences Cardiac Function in Myocardial Infarction Mice. *Front. Microbiol.* *8*, 1687.

- Lopez-Legarrea, P., Fuller, N.R., Zulet, M.A., Martinez, J.A., and Caterson, I.D. (2014). The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 23, 360–368.
- Lopez-Siles, M., Martinez-Medina, M., Busquets, D., Sabat-Mir, M., Duncan, S.H., Flint, H.J., Aldeguer, X., and Garcia-Gil, L.J. (2014). Mucosa-associated *Faecalibacterium prausnitzii* and *Escherichia coli* co-abundance can distinguish Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease phenotypes. *Int. J. Med. Microbiol. IJMM* 304, 464–475.
- Loudon, C.P., Corroll, V., Butcher, J., Rawsthorne, P., and Bernstein, C.N. (1999). The effects of physical exercise on patients with Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.* 94, 697–703.
- Louis, P., Hold, G.L., and Flint, H.J. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat. Rev. Microbiol.* 12, 661–672.
- Lu, Y., Fan, C., Li, P., Lu, Y., Chang, X., and Qi, K. (2016). Short Chain Fatty Acids Prevent High-fat-diet-induced Obesity in Mice by Regulating G Protein-coupled Receptors and Gut Microbiota. *Sci. Rep.* 6.
- Lukovac, S., Belzer, C., Pellis, L., Keijser, B.J., Vos, W.M. de, Montijn, R.C., and Roeselers, G. (2014). Differential Modulation by *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* of Host Peripheral Lipid Metabolism and Histone Acetylation in Mouse Gut Organoids. *mBio* 5, e01438-14.
- Luo, B., Xiang, D., Nieman, D.C., and Chen, P. (2014). The effects of moderate exercise on chronic stress-induced intestinal barrier dysfunction and antimicrobial defense. *Brain. Behav. Immun.* 39, 99–106.
- Macfarlane, G.T., and Macfarlane, S. (2012). Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J. AOAC Int.* 95, 50–60.
- MacInnis, M.J., and Gibala, M.J. (2017). Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J. Physiol.* 595, 2915–2930.
- MacInnis, M.J., Zacharewicz, E., Martin, B.J., Haikalis, M.E., Skelly, L.E., Tarnopolsky, M.A., Murphy, R.M., and Gibala, M.J. (2017). Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *J. Physiol.* 595, 2955–2968.
- MacLean, C.H., Mojica, W.A., Newberry, S.J., Pencharz, J., Garland, R.H., Tu, W., Hilton, L.G., Gralnek, I.M., Rhodes, S., Khanna, P., et al. (2005). Systematic review of the effects of n-3 fatty acids in inflammatory bowel disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 82, 611–619.
- Macpherson, A.J., and Harris, N.L. (2004). Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 478–485.
- Madsen, L., Petersen, R.K., and Kristiansen, K. (2005). Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1740, 266–286.

- Magro, D.O., Kotze, P.G., Martinez, C.A.R., Camargo, M.G., Guadagnini, D., Calixto, A.R., Vasques, A.C.J., Ayrizono, M. de L.S., Geloneze, B., Pareja, J.C., et al. (2017). Changes in serum levels of lipopolysaccharides and CD26 in patients with Crohn's disease. *Intest. Res.* *15*, 352–357.
- Maillard, F., Rousset, S., Pereira, B., Traore, A., de Pradel Del Amaze, P., Boirie, Y., Duclos, M., and Boisseau, N. (2016). High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* *42*, 433–441.
- Maillard, F., Pereira, B., and Boisseau, N. (2018). Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis. *Sports Med. Auckl. NZ* *48*, 269–288.
- Manichanh, C., Rigottier-Gois, L., Bonnaud, E., Gloux, K., Pelletier, E., Frangeul, L., Nalin, R., Jarrin, C., Chardon, P., Marteau, P., et al. (2006). Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* *55*, 205–211.
- Markowiak, P., and Śliżewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients* *9*.
- Marotz, C.A., and Zarrinpar, A. (2016). Treating Obesity and Metabolic Syndrome with Fecal Microbiota Transplantation. *Yale J. Biol. Med.* *89*, 383–388.
- Martin, M.L., and Jensen, M.D. (1991). Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *J. Clin. Invest.* *88*, 609–613.
- Martinez, N., Kilpatrick, M.W., Salomon, K., Jung, M.E., and Little, J.P. (2015). Affective and Enjoyment Responses to High-Intensity Interval Training in Overweight-to-Obese and Insufficiently Active Adults. *J. Sport Exerc. Psychol.* *37*, 138–149.
- Martinez-Medina, M., Denizot, J., Dreux, N., Robin, F., Billard, E., Bonnet, R., Darfeuille-Michaud, A., and Barnich, N. (2014). Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut* *63*, 116–124.
- Maslowski, K.M., Vieira, A.T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Yu, D., Schilter, H.C., Rolph, M.S., Mackay, F., Artis, D., et al. (2009). Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* *461*, 1282–1286.
- Massa, F., Marsicano, G., Hermann, H., Cannich, A., Monory, K., Cravatt, B.F., Ferri, G.-L., Sibae, A., Storr, M., and Lutz, B. (2004). The endogenous cannabinoid system protects against colonic inflammation. *J. Clin. Invest.* *113*, 1202–1209.
- Matheus, V.A., Monteiro, L., Oliveira, R.B., Maschio, D.A., and Collares-Buzato, C.B. (2017). Butyrate reduces high-fat diet-induced metabolic alterations, hepatic steatosis and pancreatic beta cell and intestinal barrier dysfunctions in prediabetic mice. *Exp. Biol. Med.* Maywood NJ 1535370217708188.
- Matsumoto, M., Inoue, R., Tsukahara, T., Ushida, K., Chiji, H., Matsubara, N., and Hara, H. (2008). Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* *72*, 572–576.

Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., and Turner, R.C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28, 412–419.

Mayes, J.S., and Watson, G.H. (2004). Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* 5, 197–216.

Mazur-Bialy, A.I., Bilski, J., Wojcik, D., Brzozowski, B., Surmiak, M., Hubalewska-Mazgaj, M., Chmura, A., Magierowski, M., Magierowska, K., Mach, T., et al. (2017). Beneficial Effect of Voluntary Exercise on Experimental Colitis in Mice Fed a High-Fat Diet: The Role of Irisin, Adiponectin and Proinflammatory Biomarkers. *Nutrients* 9.

McCabe, L.R., Irwin, R., Tekalur, A., Evans, C., Schepper, J.D., Parameswaran, N., and Ciancio, M. (2018). Exercise prevents high fat diet-induced bone loss, marrow adiposity and dysbiosis in male mice. *Bone*.

McCarthy, A.M., Menke, A., and Visvanathan, K. (2013). Association of bilateral oophorectomy and body fatness in a representative sample of US women. *Gynecol. Oncol.* 129, 559–564.

McFadden, R.-M.T., Larmonier, C.B., Shehab, K.W., Midura-Kiela, M., Ramalingam, R., Harrison, C.A., Besselsen, D.G., Chase, J.H., Caporaso, J.G., Jobin, C., et al. (2015). The Role of Curcumin in Modulating Colonic Microbiota During Colitis and Colon Cancer Prevention. *Inflamm. Bowel Dis.* 21, 2483–2494.

McPhee, J.B., Small, C.L., Reid-Yu, S.A., Brannon, J.R., Le Moual, H., and Coombes, B.K. (2014). Host Defense Peptide Resistance Contributes to Colonization and Maximal Intestinal Pathology by Crohn's Disease-Associated Adherent-Invasive Escherichia coli. *Infect. Immun.* 82, 3383–3393.

Metz, L., Vermaelen, M., Lambert, K., Broca, C., Sirvent, P., Raynaud, E., and Mercier, J. (2005). Endurance training increases lactate transport in male Zucker fa/fa rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331, 1338–1345.

Metz, L., Gerbaix, M., Masgrau, A., Guillet, C., Walrand, S., Boisseau, N., Boirie, Y., and Courteix, D. (2016). Nutritional and exercise interventions variably affect estrogen receptor expression in the adipose tissue of male rats. *Nutr. Res. N. Y.* N 36, 280–289.

Mika, A., Van Treuren, W., González, A., Herrera, J.J., Knight, R., and Fleshner, M. (2015). Exercise is More Effective at Altering Gut Microbial Composition and Producing Stable Changes in Lean Mass in Juvenile versus Adult Male F344 Rats. *PloS One* 10, e0125889.

Million, M., Maraninchi, M., Henry, M., Armougom, F., Richet, H., Carrieri, P., Valero, R., Raccah, D., Vialettes, B., and Raoult, D. (2012). Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *Int. J. Obes.* 2005 36, 817–825.

M'Koma, A.E. (2013). Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem. *Clin. Med. Insights Gastroenterol.* 6, 33–47.

Molodecky, N.A., Soon, I.S., Rabi, D.M., Ghali, W.A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E.I., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H.W., et al. (2012). Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 142, 46–54.e42; quiz e30.

Monda, V., Villano, I., Messina, A., Valenzano, A., Esposito, T., Moscatelli, F., Viggiano, A., Cibelli, G., Chieffi, S., Monda, M., et al. (2017). Exercise Modifies the Gut Microbiota with Positive Health Effects. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017, 3831972.

Moreira, A.P.B., Alves, R.D.M., Teixeira, T.F.S., Macedo, V.S., de Oliveira, L.L., Costa, N.M.B., Bressan, J., do Carmo Gouveia Peluzio, M., Mattes, R., and de Cássia Gonçalves Alfenas, R. (2015). Higher plasma lipopolysaccharide concentrations are associated with less favorable phenotype in overweight/obese men. *Eur. J. Nutr.* 54, 1363–1370.

Moreno-Navarrete, J.M., Ortega, F., Serino, M., Luche, E., Waget, A., Pardo, G., Salvador, J., Ricart, W., Frühbeck, G., Burcelin, R., et al. (2012). Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *Int. J. Obes.* 2005 36, 1442–1449.

Morikawa, M., Okazaki, K., Masuki, S., Kamijo, Y., Yamazaki, T., Gen-no, H., and Nose, H. (2011). Physical fitness and indices of lifestyle-related diseases before and after interval walking training in middle-aged and older males and females. *Br. J. Sports Med.* 45, 216–224.

Morton, K., Dennison, L., May, C., Murray, E., Little, P., McManus, R.J., and Yardley, L. (2017). Using digital interventions for self-management of chronic physical health conditions: A meta-ethnography review of published studies. *Patient Educ. Couns.* 100, 616–635.

Moschen, A.R., Adolph, T.E., Gerner, R.R., Wieser, V., and Tilg, H. (2017). Lipocalin-2: A Master Mediator of Intestinal and Metabolic Inflammation. *Trends Endocrinol. Metab.* TEM 28, 388–397.

Muccioli, G.G., Naslain, D., Bäckhed, F., Reigstad, C.S., Lambert, D.M., Delzenne, N.M., and Cani, P.D. (2010). The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol. Syst. Biol.* 6, 392.

Mundbjerg, L.H., Stolberg, C.R., Cecere, S., Bladbjerg, E.-M., Funch-Jensen, P., Gram, B., and Juhl, C.B. (2018). Supervised Physical Training Improves Weight Loss After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery: A Randomized Controlled Trial. *Obes. Silver Spring Md* 26, 828–837.

Murphy, E.F., Cotter, P.D., Healy, S., Marques, T.M., O’Sullivan, O., Fouhy, F., Clarke, S.F., O’Toole, P.W., Quigley, E.M., Stanton, C., et al. (2010). Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut* 59, 1635–1642.

Muzio, M., Polentarutti, N., Bosisio, D., Manoj Kumar, P.P., and Mantovani, A. (2000). Toll-like receptor family and signalling pathway. *Biochem. Soc. Trans.* 28, 563–566.

- Nadal, I., Santacruz, A., Marcos, A., Warnberg, J., Garagorri, J.M., Garagorri, M., Moreno, L.A., Martin-Matillas, M., Campoy, C., Martí, A., et al. (2009). Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int. J. Obes.* 2005 33, 758–767.
- Nakajima, A., Nakatani, A., Hasegawa, S., Irie, J., Ozawa, K., Tsujimoto, G., Suganami, T., Itoh, H., and Kimura, I. (2017). The short chain fatty acid receptor GPR43 regulates inflammatory signals in adipose tissue M2-type macrophages. *PLoS One* 12, e0179696.
- Ng, S.C. (2014). Epidemiology of inflammatory bowel disease: focus on Asia. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 28, 363–372.
- Ng, K.M., Ferreyra, J.A., Higginbottom, S.K., Lynch, J.B., Kashyap, P.C., Gopinath, S., Naidu, N., Choudhury, B., Weimer, B.C., Monack, D.M., et al. (2013). Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature* 502, 96–99.
- Ng, S.C., Shi, H.Y., Hamidi, N., Underwood, F.E., Tang, W., Benchimol, E.I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J.C.Y., Chan, F.K.L., et al. (2018). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet Lond. Engl.* 390, 2769–2778.
- Ng, V., Millard, W., Lebrun, C., and Howard, J. (2007). Low-intensity exercise improves quality of life in patients with Crohn’s disease. *Clin. J. Sport Med. Off. J. Can. Acad. Sport Med.* 17, 384–388.
- Nguyen, H.T.T., Dalmasso, G., Müller, S., Carrière, J., Seibold, F., and Darfeuille-Michaud, A. (2014). Crohn’s disease-associated adherent invasive *Escherichia coli* modulate levels of microRNAs in intestinal epithelial cells to reduce autophagy. *Gastroenterology* 146, 508–519.
- Nguyen, T., Ploeger, H.E., Obeid, J., Issenman, R.M., Baker, J.M., Takken, T., Parise, G., and Timmons, B.W. (2013). Reduced fat oxidation rates during submaximal exercise in adolescents with Crohn’s disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 19, 2659–2665.
- Nic Suibhne, T., Raftery, T.C., McMahon, O., Walsh, C., O’Morain, C., and O’Sullivan, M. (2013). High prevalence of overweight and obesity in adults with Crohn’s disease: associations with disease and lifestyle factors. *J. Crohns Colitis* 7, e241–248.
- Nicholls, D.G., Bernson, V.S., and Heaton, G.M. (1978). The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation. *Experientia. Suppl.* 32, 89–93.
- Nie, Y., Hu, J., and Yan, X. (2015). Cross-talk between bile acids and intestinal microbiota in host metabolism and health. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 16, 436–446.
- Nielsen, S., Guo, Z., Johnson, C.M., Hensrud, D.D., and Jensen, M.D. (2004). Splanchnic lipolysis in human obesity. *J. Clin. Invest.* 113, 1582–1588.

Nieman, D.C., Nehlsen-Cannarella, S.L., Fagoaga, O.R., Henson, D.A., Utter, A., Davis, J.M., Williams, F., and Butterworth, D.E. (1998). Effects of mode and carbohydrate on the granulocyte and monocyte response to intensive, prolonged exercise. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 *84*, 1252–1259.

Nijmeijer, R.M., Gadaleta, R.M., van Mil, S.W.C., van Bodegraven, A.A., Crusius, J.B.A., Dijkstra, G., Hommes, D.W., de Jong, D.J., Stokkers, P.C.F., Verspaget, H.W., et al. (2011). Farnesoid X receptor (FXR) activation and FXR genetic variation in inflammatory bowel disease. *PloS One* *6*, e23745.

Nilsson, N.O., and Belfrage, P. (1978). Effects of acetate, acetaldehyde, and ethanol on lipolysis in isolated rat adipocytes. *J. Lipid Res.* *19*, 737–411.

Nishitsuji, K., Xiao, J., Nagatomo, R., Umemoto, H., Morimoto, Y., Akatsu, H., Inoue, K., and Tsuneyama, K. (2017). Analysis of the gut microbiome and plasma short-chain fatty acid profiles in a spontaneous mouse model of metabolic syndrome. *Sci. Rep.* *7*.

Nogacka, A.M., Salazar, N., Arboleya, S., Suárez, M., Fernández, N., Solís, G., de Los Reyes-Gavilán, C.G., and Gueimonde, M. (2018). Early microbiota, antibiotics and health. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* *75*, 83–91.

O’Hara, A.M., and Shanahan, F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* *7*, 688–693.

Ohira, H., Fujioka, Y., Katagiri, C., Mamoto, R., Aoyama-Ishikawa, M., Amako, K., Izumi, Y., Nishiumi, S., Yoshida, M., Usami, M., et al. (2013). Butyrate attenuates inflammation and lipolysis generated by the interaction of adipocytes and macrophages. *J. Atheroscler. Thromb.* *20*, 425–442.

Organization WH Fact sheet: Obesity and Overweight 2016.

Ostman, J., Arner, P., Engfeldt, P., and Kager, L. (1979). Regional differences in the control of lipolysis in human adipose tissue. *Metabolism.* *28*, 1198–1205.

Paeschke, A., Erben, U., Kredel, L.I., Kühl, A.A., and Siegmund, B. (2017). Role of visceral fat in colonic inflammation: from Crohn’s disease to diverticulitis. *Curr. Opin. Gastroenterol.* *33*, 53–58.

Palin, S.L., McTernan, P.G., Anderson, L.A., Sturdee, D.W., Barnett, A.H., and Kumar, S. (2003). 17Beta-estradiol and anti-estrogen ICI:compound 182,780 regulate expression of lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in isolated subcutaneous abdominal adipocytes. *Metabolism.* *52*, 383–388.

Pallister, T., Jackson, M.A., Martin, T.C., Glastonbury, C.A., Jennings, A., Beaumont, M., Mohney, R.P., Small, K.S., MacGregor, A., Steves, C.J., et al. (2017). Untangling the relationship between diet and visceral fat mass through blood metabolomics and gut microbiome profiling. *Int. J. Obes.* 2005 *41*, 1106–1113.

- Palmela, C., Chevarin, C., Xu, Z., Torres, J., Sevrin, G., Hirten, R., Barnich, N., Ng, S.C., and Colombel, J.-F. (2018). Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Gut* 67, 574–587.
- Palmer, B.F., and Clegg, D.J. (2015). The sexual dimorphism of obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 402, 113–119.
- Park, B.S., Song, D.H., Kim, H.M., Choi, B.-S., Lee, H., and Lee, J.-O. (2009). The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 458, 1191–1195.
- Pasternak, B.A., D’Mello, S., Jurickova, I.I., Han, X., Willson, T., Flick, L., Petiniot, L., Uozumi, N., Divanovic, S., Traurnicht, A., et al. (2010). Lipopolysaccharide exposure is linked to activation of the acute phase response and growth failure in pediatric Crohn’s disease and murine colitis. *Inflamm. Bowel Dis.* 16, 856–869.
- Pastor Rojo, O., López San Román, A., Albéniz Arbizu, E., de la Hera Martínez, A., Ripoll Sevillano, E., and Albillos Martínez, A. (2007). Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 13, 269–277.
- Patel, P.S., Buras, E.D., and Balasubramanyam, A. (2013). The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J. Obes.* 2013, 616193.
- Paul, G., Schäffler, A., Neumeier, M., Fürst, A., Bataille, F., Buechler, C., Müller-Ladner, U., Schölmerich, J., Rogler, G., and Herfarth, H. (2006). Profiling adipocytokine secretion from creeping fat in Crohn’s disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 12, 471–477.
- Pedersen, S.B., Kristensen, K., Hermann, P.A., Katzenellenbogen, J.A., and Richelsen, B. (2004). Estrogen controls lipolysis by up-regulating alpha2A-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor alpha. Implications for the female fat distribution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 1869–1878.
- Peng, L., Li, Z.-R., Green, R.S., Holzman, I.R., and Lin, J. (2009). Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J. Nutr.* 139, 1619–1625.
- Peppler, W.T., Anderson, Z.G., MacRae, L.M., MacPherson, R.E.K., and Wright, D.C. (2017). Habitual physical activity protects against lipopolysaccharide-induced inflammation in mouse adipose tissue. *Adipocyte* 6, 1–11.
- Pérez-Martin, A., Dumortier, M., Raynaud, E., Brun, J.F., Fédou, C., Bringer, J., and Mercier, J. (2001). Balance of substrate oxidation during submaximal exercise in lean and obese people. *Diabetes Metab.* 27, 466–474.
- Perry, C.G.R., Heigenhauser, G.J.F., Bonen, A., and Spriet, L.L. (2008). High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 33, 1112–1123.
- Persson, P.G., Leijonmarck, C.E., Bernell, O., Hellers, G., and Ahlbom, A. (1993). Risk indicators for inflammatory bowel disease. *Int. J. Epidemiol.* 22, 268–272.

- Peters, H.P., De Vries, W.R., Vanberge-Henegouwen, G.P., and Akkermans, L.M. (2001). Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. *Gut* *48*, 435–439.
- Petriz, B.A., Castro, A.P., Almeida, J.A., Gomes, C.P., Fernandes, G.R., Kruger, R.H., Pereira, R.W., and Franco, O.L. (2014). Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. *BMC Genomics* *15*, 511.
- Peyrin-Biroulet, L., Chamaillard, M., Gonzalez, F., Beclin, E., Decourcelle, C., Antunes, L., Gay, J., Neut, C., Colombel, J., and Desreumaux, P. (2007). Mesenteric fat in Crohn's disease: a pathogenetic hallmark or an innocent bystander? *Gut* *56*, 577–583.
- Peyrin-Biroulet, L., Gonzalez, F., Dubuquoy, L., Rousseaux, C., Dubuquoy, C., Decourcelle, C., Saudemont, A., Tachon, M., Béclin, E., Odou, M.-F., et al. (2012). Mesenteric fat as a source of C reactive protein and as a target for bacterial translocation in Crohn's disease. *Gut* *61*, 78–85.
- Pigneur, B., and Sokol, H. (2016). Fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease: the quest for the holy grail. *Mucosal Immunol.* *9*, 1360–1365.
- Pillard, F., Van Wymelbeke, V., Garrigue, E., Moro, C., Crampes, F., Guillard, J.-C., Berlan, M., de Glisezinski, I., Harant, I., Rivière, D., et al. (2010). Lipid oxidation in overweight men after exercise and food intake. *Metabolism.* *59*, 267–274.
- Ploeger, H., Obeid, J., Nguyen, T., Takken, T., Issenman, R., de Greef, M., and Timmons, B. (2012). Exercise and inflammation in pediatric Crohn's disease. *Int. J. Sports Med.* *33*, 671–679.
- Plourde, M., and Cunnane, S.C. (2007). Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* *32*, 619–634.
- Pouliot, M.C., Després, J.P., Nadeau, A., Moorjani, S., Prud'Homme, D., Lupien, P.J., Tremblay, A., and Bouchard, C. (1992). Visceral obesity in men. Associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes* *41*, 826–834.
- Purdom, T., Kravitz, L., Dokladny, K., and Mermier, C. (2018). Understanding the factors that effect maximal fat oxidation. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* *15*, 3.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* *464*, 59–65.
- Queipo-Ortuño, M.I., Seoane, L.M., Murri, M., Pardo, M., Gomez-Zumaquero, J.M., Cardona, F., Casanueva, F., and Tinahones, F.J. (2013). Gut Microbiota Composition in Male Rat Models under Different Nutritional Status and Physical Activity and Its Association with Serum Leptin and Ghrelin Levels. *PLoS ONE* *8*.

Quero, L., Hanser, E., Manigold, T., Tiaden, A.N., and Kyburz, D. (2017). TLR2 stimulation impairs anti-inflammatory activity of M2-like macrophages, generating a chimeric M1/M2 phenotype. *Arthritis Res. Ther.* 19.

Quévrain, E., Maubert, M.A., Michon, C., Chain, F., Marquant, R., Tailhades, J., Miquel, S., Carlier, L., Bermúdez-Humarán, L.G., Pigneur, B., et al. (2016). Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut* 65, 415–425.

Rabot, S., Membrez, M., Blancher, F., Berger, B., Moine, D., Krause, L., Bibiloni, R., Bruneau, A., Gérard, P., Siddharth, J., et al. (2016). High fat diet drives obesity regardless the composition of gut microbiota in mice. *Sci. Rep.* 6, 32484.

Rapozo, D.C.M., Bernardazzi, C., and de Souza, H.S.P. (2017). Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony. *World J. Gastroenterol.* 23, 2124–2140.

Rebuffé-Scrive, M., Andersson, B., Olbe, L., and Björntorp, P. (1989). Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism.* 38, 453–458.

Rector, R.S., Rogers, R., Ruebel, M., Widzer, M.O., and Hinton, P.S. (2009). Lean body mass and weight-bearing activity in the prediction of bone mineral density in physically active men. *J. Strength Cond. Res.* 23, 427–435.

Ribeiro, R.L., Ítalo de Oliveira Silva, J., Dantas, M., and Schwingel, P.A. (2015). High-intensity interval training applied in Brazilian Jiu-jitsu is more effective to improve athletic performance and body composition. *J. Combat Sports Martial Arts* 6, 1–5.

Ricquier, D., and Kader, J.C. (1976). Mitochondrial protein alteration in active brown fat: a sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoretic study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73, 577–583.

Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., de Los Reyes-Gavilán, C.G., and Salazar, N. (2016). Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front. Microbiol.* 7, 185.

Rittig, N., Bach, E., Thomsen, H.H., Pedersen, S.B., Nielsen, T.S., Jørgensen, J.O., Jessen, N., and Møller, N. (2016). Regulation of Lipolysis and Adipose Tissue Signaling during Acute Endotoxin-Induced Inflammation: A Human Randomized Crossover Trial. *PLoS One* 11, e0162167.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., et al. (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br. J. Nutr.* 104 Suppl 2, S1-63.

Rocha, D.M., Caldas, A.P., Oliveira, L.L., Bressan, J., and Hermsdorff, H.H. (2016). Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis* 244, 211–215.

Romero-Arenas, S., Martínez-Pascual, M., and Alcaraz, P.E. (2013). Impact of Resistance Circuit Training on Neuromuscular, Cardiorespiratory and Body Composition Adaptations in the Elderly. *Aging Dis.* 4, 256–263.

- Rosenwald, M., Perdikari, A., Rüllicke, T., and Wolfrum, C. (2013). Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nat. Cell Biol.* *15*, 659–667.
- Ross, R., Freeman, J., Hudson, R., and Janssen, I. (2002). Abdominal obesity, muscle composition, and insulin resistance in premenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *87*, 5044–5051.
- Rossi, F., Bellini, G., Luongo, L., Manzo, I., Tolone, S., Tortora, C., Bernardo, M.E., Grandone, A., Conforti, A., Docimo, L., et al. (2016). Cannabinoid Receptor 2 as Antiobesity Target: Inflammation, Fat Storage, and Browning Modulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *101*, 3469–3478.
- Rothwell, N.J., and Stock, M.J. (1979). A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* *281*, 31–35.
- Rumberger, J.M., Arch, J.R.S., and Green, A. (2014). Butyrate and other short-chain fatty acids increase the rate of lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *PeerJ* *2*, e611.
- Russo, I., Luciani, A., De Cicco, P., Troncone, E., and Ciacci, C. (2012). Butyrate attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in intestinal cells and Crohn's mucosa through modulation of antioxidant defense machinery. *PloS One* *7*, e32841.
- Ryan, P.M., Stanton, C., and Caplice, N.M. (2017). Bile acids at the cross-roads of gut microbiome-host cardiometabolic interactions. *Diabetol. Metab. Syndr.* *9*, 102.
- Saghafi-Asl, M., Amiri, P., Naghizadeh, M., Ghavami, S.M., and Karamzad, N. (2017). Association of endotoxaemia with serum free fatty acids in metabolically healthy and unhealthy abdominally obese individuals: a case-control study in northwest of Iran. *BMJ Open* *7*, e015910.
- Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., Watanabe, K., Yoneshiro, T., Nio-Kobayashi, J., Iwanaga, T., Miyagawa, M., Kameya, T., Nakada, K., et al. (2009). High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes* *58*, 1526–1531.
- Salans, L.B., Cushman, S.W., and Weismann, R.E. (1973). Studies of human adipose tissue. Adipose cell size and number in nonobese and obese patients. *J. Clin. Invest.* *52*, 929–941.
- Sam, S. (2018). Differential effect of subcutaneous abdominal and visceral adipose tissue on cardiometabolic risk. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* *33*.
- Samaan, M.C., Marcinko, K., Sikkema, S., Fullerton, M.D., Ziafazeli, T., Khan, M.I., and Steinberg, G.R. (2014). Endurance interval training in obese mice reduces muscle inflammation and macrophage content independently of weight loss. *Physiol. Rep.* *2*.
- Samuel, V.T., and Shulman, G.I. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* *148*, 852–871.
- Sanchez-Delgado, G., Martinez-Tellez, B., Olza, J., Aguilera, C.M., Gil, Á., and Ruiz, J.R. (2015). Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann. Nutr. Metab.* *67*, 21–32.

Santos, N.C., Silva, A.C., Castanho, M.A.R.B., Martins-Silva, J., and Saldanha, C. (2003). Evaluation of lipopolysaccharide aggregation by light scattering spectroscopy. *Chembiochem Eur. J. Chem. Biol.* 4, 96–100.

Saponaro, C., Gaggini, M., Carli, F., and Gastaldelli, A. (2015). The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients* 7, 9453–9474.

Sartor, R.B. (2008). Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 134, 577–594.

Saxena, A., Fletcher, E., Larsen, B., Baliga, M.S., Durstine, J.L., and Fayad, R. (2012). Effect of exercise on chemically-induced colitis in adiponectin deficient mice. *J. Inflamm. Lond. Engl.* 9, 30.

Schjerve, I.E., Tyldum, G.A., Tjønnå, A.E., Stølen, T., Loennechen, J.P., Hansen, H.E.M., Haram, P.M., Heinrich, G., Bye, A., Najjar, S.M., et al. (2008). Both aerobic endurance and strength training programmes improve cardiovascular health in obese adults. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 115, 283–293.

Schneeberger, M., Everard, A., Gómez-Valadés, A.G., Matamoros, S., Ramírez, S., Delzenne, N.M., Gomis, R., Claret, M., and Cani, P.D. (2015). *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci. Rep.* 5.

Schneider, A., Hossain, I., VanderMolen, J., and Nicol, K. (2017). Comparison of remicade to curcumin for the treatment of Crohn's disease: A systematic review. *Complement. Ther. Med.* 33, 32–38.

Schumann, R.R., Leong, S.R., Flagg, G.W., Gray, P.W., Wright, S.D., Mathison, J.C., Tobias, P.S., and Ulevitch, R.J. (1990). Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 249, 1429–1431.

Schweiger, M., Schreiber, R., Haemmerle, G., Lass, A., Fledelius, C., Jacobsen, P., Tornqvist, H., Zechner, R., and Zimmermann, R. (2006). Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism. *J. Biol. Chem.* 281, 40236–40241.

Schwartz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N.A., Donus, C., and Hardt, P.D. (2010). Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obes. Silver Spring Md* 18, 190–195.

Serena, C., Keiran, N., Madeira, A., Maymó-Masip, E., Ejarque, M., Terrón-Puig, M., Espin, E., Martí, M., Borrueal, N., Guarner, F., et al. (2017). Crohn's Disease Disturbs the Immune Properties of Human Adipose-Derived Stem Cells Related to Inflammasome Activation. *Stem Cell Rep.* 9, 1109–1123.

Seura, T., Yoshino, Y., and Fukuwatari, T. (2017). The Relationship between Habitual Dietary Intake and Gut Microbiota in Young Japanese Women. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 63, 396–404.

- Shapiro, H., Kolodziejczyk, A.A., Halstuch, D., and Elinav, E. (2018). Bile acids in glucose metabolism in health and disease. *J. Exp. Med.* *215*, 383–396.
- Shawki, A., and McCole, D.F. (2017). Mechanisms of Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction by Adherent-Invasive Escherichia coli. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* *3*, 41–50.
- Sheehan, A.L., Warren, B.F., Gear, M.W., and Shepherd, N.A. (1992). Fat-wrapping in Crohn's disease: pathological basis and relevance to surgical practice. *Br. J. Surg.* *79*, 955–958.
- Shehzad, A., Rehman, G., and Lee, Y.S. (2013). Curcumin in inflammatory diseases. *BioFactors Oxf. Engl.* *39*, 69–77.
- Shen, W., Wolf, P.G., Carbonero, F., Zhong, W., Reid, T., Gaskins, H.R., and McIntosh, M.K. (2014). Intestinal and systemic inflammatory responses are positively associated with sulfidogenic bacteria abundance in high-fat-fed male C57BL/6J mice. *J. Nutr.* *144*, 1181–1187.
- Shin, N.-R., Lee, J.-C., Lee, H.-Y., Kim, M.-S., Whon, T.W., Lee, M.-S., and Bae, J.-W. (2014). An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut* *63*, 727–735.
- Shuster, A., Atlas, M., Pinthus, J.H., and Mourtzakis, M. (2012). The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br. J. Radiol.* *85*, 1–10.
- Slentz, C.A., Bateman, L.A., Willis, L.H., Shields, A.T., Tanner, C.J., Piner, L.W., Hawk, V.H., Muehlbauer, M.J., Samsa, G.P., Nelson, R.C., et al. (2011). Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* *301*, E1033–E1039.
- Smith, P.M., Howitt, M.R., Panikov, N., Michaud, M., Gallini, C.A., Bohlooly-Y, M., Glickman, J.N., and Garrett, W.S. (2013). The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* *341*, 569–573.
- Soetikno, V., Sari, F.R., Veeraveedu, P.T., Thandavarayan, R.A., Harima, M., Sukumaran, V., Lakshmanan, A.P., Suzuki, K., Kawachi, H., and Watanabe, K. (2011). Curcumin ameliorates macrophage infiltration by inhibiting NF- κ B activation and proinflammatory cytokines in streptozotocin induced-diabetic nephropathy. *Nutr. Metab.* *8*, 35.
- Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L.G., Gratadoux, J.-J., Blugeon, S., Bridonneau, C., Furet, J.-P., Corthier, G., et al. (2008). Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *105*, 16731–16736.
- Sottier, D., Petit, J.-M., Guiu, S., Hamza, S., Benhamiche, H., Hillon, P., Cercueil, J.-P., Krausé, D., and Guiu, B. (2013). Quantification of the visceral and subcutaneous fat by computed tomography: interobserver correlation of a single slice technique. *Diagn. Interv. Imaging* *94*, 879–884.

Sreedhar, R., Arumugam, S., Thandavarayan, R.A., Karuppagounder, V., and Watanabe, K. (2016). Curcumin as a therapeutic agent in the chemoprevention of inflammatory bowel disease. *Drug Discov. Today* 21, 843–849.

Storr, M.A., Keenan, C.M., Emmerdinger, D., Zhang, H., Yüce, B., Sibaev, A., Massa, F., Buckley, N.E., Lutz, B., Göke, B., et al. (2008). Targeting endocannabinoid degradation protects against experimental colitis in mice: involvement of CB1 and CB2 receptors. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* 86, 925–936.

Sukonina, V., Lookene, A., Olivecrona, T., and Olivecrona, G. (2006). Angiotensin-like protein 4 converts lipoprotein lipase to inactive monomers and modulates lipase activity in adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 17450–17455.

Suskind, D.L., Brittnacher, M.J., Wahbeh, G., Shaffer, M.L., Hayden, H.S., Qin, X., Singh, N., Damman, C.J., Hager, K.R., Nielson, H., et al. (2015). Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn’s disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 21, 556–563.

Takahashi, K., Nishida, A., Fujimoto, T., Fujii, M., Shioya, M., Imaeda, H., Inatomi, O., Bamba, S., Sugimoto, M., and Andoh, A. (2016). Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn’s Disease. *Digestion* 93, 59–65.

Talanian, J.L., Galloway, S.D.R., Heigenhauser, G.J.F., Bonen, A., and Spriet, L.L. (2007). Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J. Appl. Physiol.* 102, 1439–1447.

Talanian, J.L., Holloway, G.P., Snook, L.A., Heigenhauser, G.J.F., Bonen, A., and Spriet, L.L. (2010). Exercise training increases sarcolemmal and mitochondrial fatty acid transport proteins in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 299, E180-188.

Tanaka, H., Monahan, K.D., and Seals, D.R. (2001). Age-predicted maximal heart rate revisited. *J. Am. Coll. Cardiol.* 37, 153–156.

Tansey, J.T., Sztalryd, C., Hlavin, E.M., Kimmel, A.R., and Londos, C. (2004). The central role of perilipin a in lipid metabolism and adipocyte lipolysis. *IUBMB Life* 56, 379–385.

Taylor, J., Keating, S.E., Holland, D.J., Coombes, J.S., and Leveritt, M.D. (2018). The Chronic Effect of Interval Training on Energy Intake: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Obes.* 2018, 6903208.

Tchernof, A., Bélanger, C., Morisset, A.-S., Richard, C., Mailloux, J., Laberge, P., and Dupont, P. (2006). Regional differences in adipose tissue metabolism in women: minor effect of obesity and body fat distribution. *Diabetes* 55, 1353–1360.

Tedelind, S., Westberg, F., Kjerrulf, M., and Vidal, A. (2007). Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* 13, 2826–2832.

- Teodoro, J.S., Zouhar, P., Flachs, P., Bardova, K., Janovska, P., Gomes, A.P., Duarte, F.V., Varela, A.T., Rolo, A.P., Palmeira, C.M., et al. (2014). Enhancement of brown fat thermogenesis using chenodeoxycholic acid in mice. *Int. J. Obes.* 2005 *38*, 1027–1034.
- Tew, G.A., Carpenter, R., Seed, M., Anderson, S., Langmead, L., Fairhurst, C., and Bottoms, L. (2017). Feasibility of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training in adults with inactive or mildly active Crohn's disease: study protocol for a randomised controlled trial. *Pilot Feasibility Stud.* *3*, 17.
- Thum, J.S., Parsons, G., Whittle, T., and Astorino, T.A. (2017). High-Intensity Interval Training Elicits Higher Enjoyment than Moderate Intensity Continuous Exercise. *PloS One* *12*, e0166299.
- Tilg, H., and Kaser, A. (2011). Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J. Clin. Invest.* *121*, 2126–2132.
- Tiraby, C., and Langin, D. (2003). Conversion from white to brown adipocytes: a strategy for the control of fat mass? *Trends Endocrinol. Metab.* *TEM* *14*, 439–441.
- Tjønnå, A.E., Stølen, T.O., Bye, A., Volden, M., Slørdahl, S.A., Odegård, R., Skogvoll, E., and Wisløff, U. (2009). Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 *116*, 317–326.
- Tomas, J., Mulet, C., Saffarian, A., Cavin, J.-B., Ducroc, R., Regnault, B., Kun Tan, C., Duszka, K., Burcelin, R., Wahli, W., et al. (2016). High-fat diet modifies the PPAR- γ pathway leading to disruption of microbial and physiological ecosystem in murine small intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *113*, E5934–E5943.
- Torres, J., Mehandru, S., Colombel, J.-F., and Peyrin-Biroulet, L. (2017). Crohn's disease. *Lancet Lond. Engl.* *389*, 1741–1755.
- Trapp, E.G., Chisholm, D.J., and Boutcher, S.H. (2007). Metabolic response of trained and untrained women during high-intensity intermittent cycle exercise. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *293*, R2370-2375.
- Trapp, E.G., Chisholm, D.J., Freund, J., and Boutcher, S.H. (2008). The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int. J. Obes.* 2005 *32*, 684–691.
- Tremaroli, V., and Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* *489*, 242–249.
- Tsai, Y.-T., Cheng, P.-C., and Pan, T.-M. (2014). Anti-obesity effects of gut microbiota are associated with lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *98*, 1–10.
- Tsiloulis, T., Carey, A.L., Bayliss, J., Canny, B., Meex, R.C.R., and Watt, M.J. (2017). No evidence of white adipocyte browning after endurance exercise training in obese men. *Int. J. Obes.* 2005.

Türk, Y., Theel, W., Kasteleyn, M.J., Franssen, F.M.E., Hiemstra, P.S., Rudolphus, A., Taube, C., and Braunstahl, G.J. (2017). High intensity training in obesity: a Meta-analysis. *Obes. Sci. Pract.* *3*, 258–271.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., and Gordon, J.I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* *444*, 1027–1031.

Turnbaugh, P.J., Ridaura, V.K., Faith, J.J., Rey, F.E., Knight, R., and Gordon, J.I. (2009). The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci. Transl. Med.* *1*, 6ra14.

Tyagi, A., Kumar, U., Santosh, V.S., Reddy, S., Mohammed, S.B., and Ibrahim, A. (2014). Partial replacement of dietary linoleic acid with long chain n-3 polyunsaturated fatty acids protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* *91*, 289–297.

Uranga, J.A., López-Miranda, V., Lombó, F., and Abalo, R. (2016). Food, nutrients and nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease. *Pharmacol. Rep. PR* *68*, 816–826.

Vague, J. (1996). The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *1956. Obes. Res.* *4*, 204–212.

Van Etten, L.M., Westerterp, K.R., Verstappen, F.T., Boon, B.J., and Saris, W.H. (1997). Effect of an 18-wk weight-training program on energy expenditure and physical activity. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* *1985* *82*, 298–304.

Van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhomerig, J.W., Smulders, N.M., Drossaerts, J.M.A.F.L., Kemerink, G.J., Bouvy, N.D., Schrauwen, P., and Teule, G.J.J. (2009). Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1500–1508.

Vandeputte, D., Falony, G., Vieira-Silva, S., Tito, R.Y., Joossens, M., and Raes, J. (2016). Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut* *65*, 57–62.

Vatier, C., Kadiri, S., Muscat, A., Chapron, C., Capeau, J., and Antoine, B. (2012). Visceral and subcutaneous adipose tissue from lean women respond differently to lipopolysaccharide-induced alteration of inflammation and glyceroneogenesis. *Nutr. Diabetes* *2*, e51.

Vazeille, E., Buisson, A., Bringer, M.-A., Goutte, M., Ouchchane, L., Hugot, J.-P., de Vallée, A., Barnich, N., Bommelaer, G., and Darfeuille-Michaud, A. (2015). Monocyte-derived macrophages from Crohn's disease patients are impaired in the ability to control intracellular adherent-invasive *Escherichia coli* and exhibit disordered cytokine secretion profile. *J. Crohns Colitis* *9*, 410–420.

Vegh, Z., Kurti, Z., and Lakatos, P.L. (2017). Epidemiology of inflammatory bowel diseases from west to east. *J. Dig. Dis.* *18*, 92–98.

Vella, C.A., Taylor, K., and Drummer, D. (2017). High-intensity interval and moderate-intensity continuous training elicit similar enjoyment and adherence levels in overweight and obese adults. *Eur. J. Sport Sci.* *17*, 1203–1211.

Verheggen, R.J.H.M., Maessen, M.F.H., Green, D.J., Hermus, A.R.M.M., Hopman, M.T.E., and Thijssen, D.H.T. (2016). A systematic review and meta-analysis on the effects of exercise training versus hypocaloric diet: distinct effects on body weight and visceral adipose tissue. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *17*, 664–690.

Vijay-Kumar, M., Aitken, J.D., Carvalho, F.A., Cullender, T.C., Mwangi, S., Srinivasan, S., Sitaraman, S.V., Knight, R., Ley, R.E., and Gewirtz, A.T. (2010). Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* *328*, 228–231.

Vissers, D., Hens, W., Taeymans, J., Baeyens, J.-P., Poortmans, J., and Van Gaal, L. (2013). The effect of exercise on visceral adipose tissue in overweight adults: a systematic review and meta-analysis. *PloS One* *8*, e56415.

Vissers, D., Hens, W., Hansen, D., and Taeymans, J. (2016). The Effect of Diet or Exercise on Visceral Adipose Tissue in Overweight Youth. *Med. Sci. Sports Exerc.* *48*, 1415–1424.

Vitali, A., Murano, I., Zingaretti, M.C., Frontini, A., Ricquier, D., and Cinti, S. (2012). The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *J. Lipid Res.* *53*, 619–629.

Vitseva, O.I., Tanriverdi, K., Tchkonja, T.T., Kirkland, J.L., McDonnell, M.E., Apovian, C.M., Freedman, J., and Gokce, N. (2008). Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. *Obes. Silver Spring Md* *16*, 932–937.

Vlahu-Gjorgievska, E., Koceski, S., Kulev, I., and Trajkovik, V. (2016). Connected-Health Algorithm: Development and Evaluation. *J. Med. Syst.* *40*, 109.

Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R.S., Bartelsman, J.F.W.M., Dallinga-Thie, G.M., Ackermans, M.T., Serlie, M.J., Oozeer, R., et al. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* *143*, 913–916.e7.

Wadley, A.J., Chen, Y.-W., Lip, G.Y.H., Fisher, J.P., and Aldred, S. (2016). Low volume-high intensity interval exercise elicits antioxidant and anti-inflammatory effects in humans. *J. Sports Sci.* *34*, 1–9.

Wahlström, A., Sayin, S.I., Marschall, H.-U., and Bäckhed, F. (2016). Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab.* *24*, 41–50.

Wajchenberg, B.L. (2000). Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* *21*, 697–738.

- Wajchenberg, B.L., Giannella-Neto, D., da Silva, M.E., and Santos, R.F. (2002). Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. *Horm. Metab. Res. Horm. Stoffwechselforschung Horm. Metab.* *34*, 616–621.
- Wakayama, S., Haque, A., Koide, N., Kato, Y., Odkhuu, E., Bilegtsaikhan, T., Naiki, Y., Komatsu, T., Yoshida, T., and Yokochi, T. (2014). Lipopolysaccharide impairs insulin sensitivity via activation of phosphoinositide 3-kinase in adipocytes. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* *36*, 145–149.
- Walker, A.W., Duncan, S.H., McWilliam Leitch, E.C., Child, M.W., and Flint, H.J. (2005). pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.* *71*, 3692–3700.
- Walther, B., Karl, J.P., Booth, S.L., and Boyaval, P. (2013). Menaquinones, Bacteria, and the Food Supply: The Relevance of Dairy and Fermented Food Products to Vitamin K Requirements¹²³. *Adv. Nutr.* *4*, 463–473.
- Wang, H., Hu, L., Dalen, K., Dorward, H., Marcinkiewicz, A., Russell, D., Gong, D., Londos, C., Yamaguchi, T., Holm, C., et al. (2009). Activation of hormone-sensitive lipase requires two steps, protein phosphorylation and binding to the PAT-1 domain of lipid droplet coat proteins. *J. Biol. Chem.* *284*, 32116–32125.
- Wang, H.-B., Wang, P.-Y., Wang, X., Wan, Y.-L., and Liu, Y.-C. (2012). Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. *Dig. Dis. Sci.* *57*, 3126–3135.
- Wang, J., Ghosh, S.S., and Ghosh, S. (2017). Curcumin improves intestinal barrier function: modulation of intracellular signaling, and organization of tight junctions. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* *312*, C438–C445.
- Wang, Q., Zhang, M., Xu, M., Gu, W., Xi, Y., Qi, L., Li, B., and Wang, W. (2015). Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human. *PLoS One* *10*, e0123795.
- Wang, Q., Xu, K.-Q., Qin, X.-R., Wen-Lu, null, Yan-Liu, null, and Wang, X.-Y. (2016). Association between physical activity and inflammatory bowel disease risk: A meta-analysis. *Dig. Liver Dis. Off. J. Ital. Soc. Gastroenterol. Ital. Assoc. Study Liver* *48*, 1425–1431.
- Wang, X., Quinn, P.J., and Yan, A. (2015). Kdo2 -lipid A: structural diversity and impact on immunopharmacology. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* *90*, 408–427.
- Weir, J.B.D.B. (1949). New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J. Physiol.* *109*, 1–9.
- Welly, R.J., Liu, T.-W., Zidon, T.M., Rowles, J.L., Park, Y.-M., Smith, T.N., Swanson, K.S., Padilla, J., and Vieira-Potter, V.J. (2016). Comparison of Diet versus Exercise on Metabolic Function and Gut Microbiota in Obese Rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* *48*, 1688–1698.

- Weston, K.S., Wisløff, U., and Coombes, J.S. (2014). High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Sports Med.* *48*, 1227–1234.
- Wewege, M., van den Berg, R., Ward, R.E., and Keech, A. (2017). The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on body composition in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *18*, 635–646.
- White, U.A., and Tchoukalova, Y.D. (2014). Sex dimorphism and depot differences in adipose tissue function. *Biochim. Biophys. Acta* *1842*, 377–392.
- Wiese, D.M., Horst, S.N., Brown, C.T., Allaman, M.M., Hodges, M.E., Slaughter, J.C., Druce, J.P., Beaulieu, D.B., Schwartz, D.A., Wilson, K.T., et al. (2016). Serum Fatty Acids Are Correlated with Inflammatory Cytokines in Ulcerative Colitis. *PLoS One* *11*, e0156387.
- Wilcox, C., Turner, J., and Green, J. (2014). Systematic review: the management of chronic diarrhoea due to bile acid malabsorption. *Aliment. Pharmacol. Ther.* *39*, 923–939.
- Willis, L.H., Slentz, C.A., Bateman, L.A., Shields, A.T., Piner, L.W., Bales, C.W., Houmard, J.A., and Kraus, W.E. (2012). Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* *113*, 1831–1837.
- Windey, K., De Preter, V., and Verbeke, K. (2012). Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol. Nutr. Food Res.* *56*, 184–196.
- Wingfield, H.L., Smith-Ryan, A.E., Melvin, M.N., Roelofs, E.J., Trexler, E.T., Hackney, A.C., Weaver, M.A., and Ryan, E.D. (2015). The acute effect of exercise modality and nutrition manipulations on post-exercise resting energy expenditure and respiratory exchange ratio in women: a randomized trial. *Sports Med. - Open* *1*, 11.
- Wiroth, J.-B., Filippi, J., Schneider, S.M., Al-Jaouni, R., Horvais, N., Gavarry, O., Bermon, S., and Hébuterne, X. (2005). Muscle performance in patients with Crohn's disease in clinical remission. *Inflamm. Bowel Dis.* *11*, 296–303.
- Woods, S.C., Gotoh, K., and Clegg, D.J. (2003). Gender differences in the control of energy homeostasis. *Exp. Biol. Med.* *Maywood NJ* *228*, 1175–1180.
- Wright, E.K., Kamm, M.A., Teo, S.M., Inouye, M., Wagner, J., and Kirkwood, C.D. (2015). Recent advances in characterizing the gastrointestinal microbiome in Crohn's disease: a systematic review. *Inflamm. Bowel Dis.* *21*, 1219–1228.
- Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., and Mathison, J.C. (1990). CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* *249*, 1431–1433.
- Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., et al. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* *150*, 366–376.

- Yadav, D.P., Madhusudhan, K.S., Kedia, S., Sharma, R., Pratap Mouli, V., Bopanna, S., Dhingra, R., Pradhan, R., Goyal, S., Sreenivas, V., et al. (2017). Development and validation of visceral fat quantification as a surrogate marker for differentiation of Crohn's disease and intestinal tuberculosis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *32*, 420–426.
- Yang, Y., Shi, Y., Wiklund, P., Tan, X., Wu, N., Zhang, X., Tikkanen, O., Zhang, C., Munukka, E., and Cheng, S. (2017). The Association between Cardiorespiratory Fitness and Gut Microbiota Composition in Premenopausal Women. *Nutrients* *9*.
- Yoon, M., and Kim, M.-Y. (2011). The anti-angiogenic herbal composition Ob-X from *Morus alba*, *Melissa officinalis*, and *Artemisia capillaris* regulates obesity in genetically obese ob/ob mice. *Pharm. Biol.* *49*, 614–619.
- Zechner, R., Zimmermann, R., Eichmann, T.O., Kohlwein, S.D., Haemmerle, G., Lass, A., and Madeo, F. (2012). FAT SIGNALS - Lipases and Lipolysis in Lipid Metabolism and Signaling. *Cell Metab.* *15*, 279–291.
- Zhang, M., and Yang, X.-J. (2016). Effects of a high fat diet on intestinal microbiota and gastrointestinal diseases. *World J. Gastroenterol.* *22*, 8905–8909.
- Zhang, C., Zhang, M., Wang, S., Han, R., Cao, Y., Hua, W., Mao, Y., Zhang, X., Pang, X., Wei, C., et al. (2010). Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J.* *4*, 232–241.
- Zhang, D., Huang, Y., and Ye, D. (2015). Intestinal dysbiosis: an emerging cause of pregnancy complications? *Med. Hypotheses* *84*, 223–226.
- Zhang, H., Tong, T.K., Qiu, W., Wang, J., Nie, J., and He, Y. (2015). Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: A randomized controlled trial. *Kinesiology* *47*, 57–66.
- Zhang, X., Gao, S., Niu, J., Li, P., Deng, J., Xu, S., Wang, Z., Wang, W., Kong, D., and Li, C. (2016). Cannabinoid 2 Receptor Agonist Improves Systemic Sensitivity to Insulin in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* *40*, 1175–1185.
- Zhao, J., Sun, X.-B., Ye, F., and Tian, W.-X. (2011). Suppression of fatty acid synthase, differentiation and lipid accumulation in adipocytes by curcumin. *Mol. Cell. Biochem.* *351*, 19–28.
- Zhao, X., Zhang, Z., Hu, B., Huang, W., Yuan, C., and Zou, L. (2018). Response of Gut Microbiota to Metabolite Changes Induced by Endurance Exercise. *Front. Microbiol.* *9*, 765.
- Zimmermann, R., Strauss, J.G., Haemmerle, G., Schoiswohl, G., Birner-Gruenberger, R., Riederer, M., Lass, A., Neuberger, G., Eisenhaber, F., Hermetter, A., et al. (2004). Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* *306*, 1383–1386.

Zouhal, H., Jacob, C., Delamarche, P., and Gratas-Delamarche, A. (2008). Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Med.* *38*, 401–423.

Zu, L., He, J., Jiang, H., Xu, C., Pu, S., and Xu, G. (2009). Bacterial endotoxin stimulates adipose lipolysis via toll-like receptor 4 and extracellular signal-regulated kinase pathway. *J. Biol. Chem.* *284*, 5915–5926.

Zubkova, E.S., Beloglazova, I.B., Makarevich, P.I., Boldyreva, M.A., Sukhareva, O.Y., Shestakova, M.V., Dergilev, K.V., Parfyonova, Y.V., and Menshikov, M.Y. (2016). Regulation of Adipose Tissue Stem Cells Angiogenic Potential by Tumor Necrosis Factor-Alpha. *J. Cell. Biochem.* *117*, 180–196.

Zulian, A., Canello, R., Ruocco, C., Gentilini, D., Di Blasio, A.M., Danelli, P., Micheletto, G., Cesana, E., and Invitti, C. (2013). Differences in visceral fat and fat bacterial colonization between ulcerative colitis and Crohn's disease. An in vivo and in vitro study. *PloS One* *8*, e78495.

Annexes

Author's Reply to Li et al: Comment on: "Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis"

Florie Maillard¹ · Bruno Pereira¹ · Nathalie Boisseau¹

© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018

Dear Editor,

We appreciate the interest in our recent meta-analysis [1] and welcome the opportunity to reply to Li et al [2].

First, concerning our search strategy, although other large databases can be used, PubMed and Google Scholar electronic or PubMed alone are used in systematic and/or meta-analysis reviews [3, 4]. Widening the search by consulting Web of Science, Embase, SPORTDiscus, and the Cochrane Library (from January 1980 to July 2017 as in our review), we were able to ascertain that no original paper dealing with the topic had been overlooked.

With regard to the second remark, we agree that the quality of each trial needs to be assessed in a systematic review. In our meta-analysis, we chose to include all studies and to perform stratifications when appropriate. However, to confirm the reliability of our meta-analysis, study quality was assessed a posteriori by two researchers using a modified Downs and Black checklist [3, 5]. Items included adequate reporting of the following: hypotheses, outcomes, interventions, adverse events, participant characteristics (based on clearly stated inclusion and exclusion criteria), descriptions of patients lost to follow-up (studies with >10 % dropout without characteristics reported scored "0"), assessment method accuracy, statistical methods, and blinding and randomization procedures. From this analysis,

the highest possible score for quality was 19. The average obtained after evaluation of each trial in our meta-analysis was 15 ± 2.6 , which attests to the high quality of the publications analyzed.

Finally, regarding the potential adverse effects of high-intensity interval training (HIIT), only 2 of our 39 analyzed publications reported adverse effects, both of which were minor [one subject with low back pain and one with slight hip pain, *i.e.*, 0.32 % of the population tested (2/617)]. We do not agree that HIIT is an unsafe training modality. Numerous studies have shown that HIIT is both safe and well-tolerated in individuals with various diseases, including metabolic disorders such as overweight, obesity, and type 2 diabetes mellitus [6–8], and is even used in cardiac rehabilitation [9–11]. For more details about this particular patient population, which is perhaps the most vulnerable, the interested reader should refer to Ribeiro et al. [11], who conclude the discussion in their review by stating, "HIIT should now become systematically integrated in cardiac rehabilitation programs for all cardiac patients, while reinforcing existing evidence on long-term safety and efficacy of this training modality."

Thus, although—as with any meta-analysis review—the results must be interpreted with caution (owing in part to intra-study variability), our responses confirm that the conclusions reported in our article are well supported by the overall results.

✉ Nathalie Boisseau
nathalie.boisseau@uca.fr

¹ Clermont Auvergne University, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), 63000 Clermont-Ferrand, France

Compliance with Ethical Standards

Funding No sources of funding were used to assist in the preparation of this letter.

Conflicts of interest Florie Maillard, Bruno Pereira, and Nathalie Boisseau have no conflicts of interest relevant to the content of this letter.

References

1. Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis. *Sports Med.* 2018;48(2):269–88.
2. Li M, Chen H, Chen C, Zhu T. Comment on: “Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis”. *Sports Med.* 2018.
3. Keating SE, Johnson NA, Mielke GI, Coombes JS. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. *Obes Rev.* 2017;18(8):943–64.
4. Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Tucker PS, Fenning AS. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med.* 2017;51:494–503.
5. Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health.* 1998;52:377–84.
6. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectr.* 2015;28:39–44.
7. Ramos JS, Dalleck LC, Borrani F, Mallard AR, Clark B, Keating SE, et al. The effect of different volumes of high-intensity interval training on proinsulin in participants with the metabolic syndrome: a randomised trial. *Diabetologia.* 2016;59:2308–20.
8. Winding KM, Munch GW, Iepsen UW, Van Hall G, Pedersen BK, Mortensen SP. The effect on glycaemic control of low-volume high-intensity interval training versus endurance training in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2017. <https://doi.org/10.1111/dom.13198> (**Epub ahead of print**).
9. Hannan AL, Hing W, Simas V, Climstein M, Coombes JS, Jayasinghe R, et al. High-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training within cardiac rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. *Open Access J Sports Med.* 2018;9:1–17.
10. Rognmo Ø, Moholdt T, Bakken H, Hole T, Mølsted P, Myhr NE, et al. Cardiovascular risk of high- versus moderate-intensity aerobic exercise in coronary heart disease patients. *Circulation.* 2012;126:1436–40.
11. Ribeiro RL, de Oliveira Ítalo, Silva J, Dantas M, Schwingel PA. High-intensity interval training applied in Brazilian Jiu-jitsu is more effective to improve athletic performance and body composition. *J Combat Sports Martial Arts.* 2015;1(2):1–5.

Author's Reply to Andreato et al.: Comment on: “Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis”

Florie Maillard¹ · Bruno Pereira¹ · Nathalie Boisseau¹

© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018

Dear Editor,

We thank Andreato et al. [1] for their favorable appraisal of our review [2] and welcome the opportunity to address the points they raise.

The great difficulty in studying the effects of a high-intensity interval training (HIIT) program arises from the multiplicity of the procedures used. Using the same definition (short bursts of high-intensity exercise interspersed with periods of lower-intensity effort or complete rest for recovery), HIIT can include numerous protocol modalities with a broad range of intervals, intensities and program durations, which can obfuscate results. Furthermore, as we state in our review [2], the lack of information sometimes observed in cycling programs (cycle ergometer used, revolutions per minute, resistance, watts, target heart rate, etc.) or in running programs (speed, treadmill gradient, target heart rate, etc.) makes it more difficult to compare protocols. In our review, we set out to give as many details as possible for each study (Table 2 included exercise modality, total duration of HIIT protocol, number of series and repetitions, interval duration, maximal intensity, lower-intensity effort, and complete recovery). Even so, we agree we could have removed the warm-up and follow-up in the publication of Shepherd et al. [3] and Arad et al. [4], which artificially increased the total duration of the HIIT protocol.

Regarding the analysis of the effect of HIIT on abdominal fat mass, we again state in the Discussion section the difficulty of comparing the different abdominal area used: “Three areas, designated ‘abdominal’ ($n = 14$), ‘trunk’ ($n = 12$), or ‘android region or area’ ($n = 6$), were used in the publications analyzed, but most of the time represented different anatomic regions” [2]. Furthermore, it was not unusual, in the same study, for several regions to be analyzed using the same or different methodologies. For example, in the study by Maillard et al. [5], total abdominal fat mass was determined from dual-energy X-ray absorptiometry, but a computed tomography scan was also used to target the lumbar L4–L5 area, which explains the two analyses. Thus, the effect of HIIT on abdominal fat mass was analyzed by including all measurements performed and, for the same study, did not always correspond to different HIIT protocols. For a very few studies, it can also refer to multiple protocols or populations tested (Table 1).

The second comment concerns the inclusion of studies with potential confounding factors. This is inevitable when physical activity programs are compared in a meta-analysis, and other confounding factors could be added to those mentioned by Andreato et al. [1], such as diet management or not, HIIT protocol performed in the morning in a fasting state or after lunch or in the evening, hormonal status of the female subjects (taking oral contraception or not, or performing during their follicular or luteal phase), indication (or lack of indication) regarding warm-up and what the subjects did during the recovery phase of HIIT intervals, or, again, the wide spectrum of medications used by the subjects.

✉ Nathalie Boisseau
nathalie.boisseau@uca.fr

¹ Clermont Auvergne University, AME2P Laboratory, 63000 Clermont-Ferrand, France

Table 1 Methods of measuring abdominal fat mass and/or protocol and populations tested in the studies reviewed [2]

Study (method)	Details
Fex et al. [15] (1)	Abdominal measurement: trunk fat mass (kg)
Fex et al. [15] (2)	Abdominal measurement: android fat mass (kg)
Gillen et al. [16] (1)	Protocol: HIIT: 10 × [60 s (90% HR _{max})/60 s]
Gillen et al. [16] (2)	Protocol: HIIT: 10 × [60 s (90% HR _{max})/60 s]
Heydari et al. [17] (1)	Abdominal measurement: trunk fat (kg)
Heydari et al. [17] (2)	Abdominal measurement: abdominal fat (kg)
Heydari et al. [17] (3)	Abdominal measurement: abdominal fat L2/L3 (g)
Heydari et al. [17] (4)	Abdominal measurement: abdominal fat L4/L5 (g)
Hutchison et al. [9] (1)	Population: overweight women – polycystic ovary syndrome
Hutchison et al. [9] (2)	Population: overweight women – no polycystic ovary syndrome
Kong et al. [18] (1)	Abdominal measurement: trunk FM (kg)
Kong et al. [18] (2)	Abdominal measurement: abdomen FM (kg)
Maillard et al. [5] (1)	Method of abdominal measurement: CT scan: abdominal fat L4/L5 (g)
Maillard et al. [5] (2)	Method of abdominal measurement: DXA: area from L1–L2 to the pubic rami to determine total abdominal FM (kg)
Martins et al. [11] (1)	Protocol: 250 kcal: [8 s (85–90% HR _{max})/12 sR]
Martins et al. [11] (2)	Protocol: 125 kcal: [8 s (85–90% HR _{max})/12 sR]
Ramos et al. [19] (1)	Abdominal measurement: trunk fat (%)
Ramos et al. [19] (2)	Abdominal measurement: android fat (%)
Tjønnå et al. [20] (1)	Protocol: 1-HIIT: 1 × [4 min (90% HR _{max})]
Tjønnå et al. [20] (2)	Protocol: 4-HIIT: 4 × [4 min (90% HR _{max})/3 min (70% HR _{max})]
Trapp et al. [21] (1)	Abdominal measurement: trunk FM (kg)
Trapp et al. [21] (2)	Abdominal measurement: central abdominal measurement covered a section between T12 and L4

CT computed tomography, DXA dual-energy X-ray absorptiometry, FM fat mass, HIIT high-intensity interval training, HR_{max} maximum heart rate, R recovery, L lumbar, T thoracic

However, to answer the first examples cited, we are not convinced, in the studies of Cassidy et al. [6] and Halls-worth et al. [7], that (1) the 3-min recovery periods between each interval, including 90 s passive recovery, 60 s of band-resisted upper body exercise, and 30 s to prepare for the subsequent interval, or (2) the recovery period between each interval, including 90 s of passive recovery, 60 s of light band-resisted upper body exercise, and 15 s off to prepare for the subsequent interval, could alter the analysis regarding the main outcomes, i.e. total and abdominal fat mass loss following HIIT protocols. In the study by Hornbuckle et al. [8], it is true that both groups (HIIT and steady-state exercise) completed a 4-week adaptation period to become accustomed to the treadmill exercise prior to beginning their respective time-matched protocols. However, after this, they performed a 12-week intervention in HIIT or moderate-intensity continuous training, which justifies the inclusion of this publication. Finally, in the studies by Hutchison et al. [9] and Terada et al. [10], the authors added one session per week of low-intensity prolonged exercise in their physical activity program. Even though one session of low-intensity prolonged exercise is included in the program (no more intense than a walk), the main protocol including HIIT sessions met our

criteria and could therefore be integrated in the meta-analysis. Furthermore, this additional session is specified in Table 2 of our review [2].

Regarding the third point of concern, as we understand it, we do not think that some studies included in our meta-analysis did not meet the proposed eligibility criteria for our review. Even if authors spoke about a sprint interval training (SIT) protocol in their abstract or in the Methodology section (i.e. > 100% maximal oxygen consumption), we included their publications when their Results sections stated that the program was in fact performed with an exercise intensity range from 80 to 100% of the peak heart rate. For example, in the papers by Martins et al. [11] and Maillard et al. [5], the HIIT protocol consisted of 8 s of sprinting and 12 s of recovery phase. Although this is consistent with an all-out mode (SIT protocol), the subjects in fact performed to an external load equivalent to 85–90% of their peak heart rate. In another example (Wallman et al. [12]), subjects were able to develop 104% of maximum heart rate, but only at the end of the 2-month program.

The fourth point of concern is the lack of ‘equalization’. All statistical analyses were carried out using random-effects models, taking into account (1) between- and within-study variability, and (2) the weight of each study compared with

others in the stratum. Furthermore, in our meta-analysis, we chose to include all studies in our analysis and to perform stratifications to determine the impact of (1) the nature of HIIT (cycling vs. running, target intensity); (2) sex and/or body weight; and (3) the methods of measuring body composition. The lack of equalization is linked to the difficulty in choosing the 'right' parameter to do it. What was most important, the time of the HIIT session or the intensity or duration of the protocol? Here again, the numerous HIIT protocol modalities with a broad range of intervals, intensities, and program durations made the choice difficult. We are aware of this limitation and accordingly state in the Discussion section that these exploratory results are to be interpreted with caution, i.e. with the inherent limitation of HIIT protocol differences [2].

Finally, as proposed by Andreato et al. [1], and to confirm the reliability of our meta-analysis, the study quality was assessed a posteriori by two researchers using a modified Downs and Black checklist [13, 14]. Items included adequate reporting of the following: hypotheses, outcomes, interventions, adverse events, participant characteristics (based on clearly stated inclusion and exclusion criteria), descriptions of patients lost to follow-up (studies with > 10% dropout without characteristics reported scored '0'), assessment method accuracy, statistical methods, and blinding and randomization procedures. Using this analysis, the highest possible score for quality was 19. The average obtained after evaluation of each trial in our meta-analysis was 15 ± 2.6 , which attests to the high quality of the publications analyzed.

To conclude, we warmly thank Andreato et al. [1] for the complete and careful reading of our publication, which has helped enable us to ensure a better understanding of our results. In this recent field, it is true that the complexity of the analysis lies in the broad range of HIIT protocols proposed. Thus, although, as with any meta-analysis review, the results have to be interpreted with caution (owing in part to intrastudy variability), we hope that our responses are clear enough to confirm the conclusions reported in our article.

Compliance with Ethical Standards

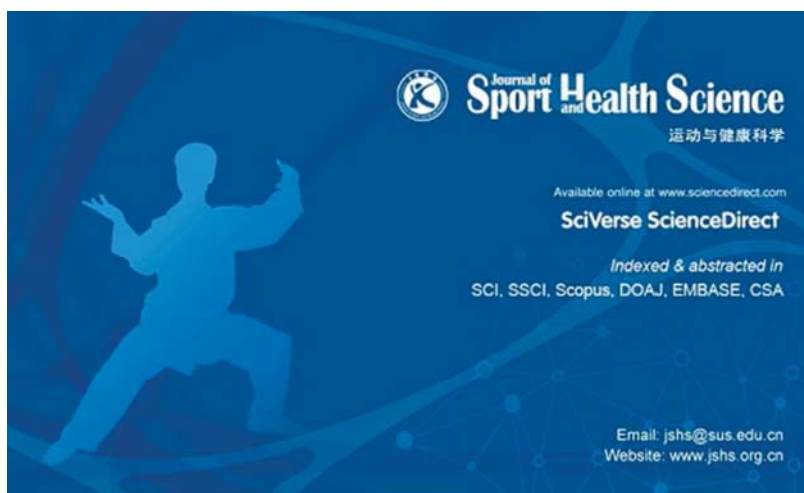
Funding No sources of funding were used to assist in the preparation of this letter.

Conflicts of interest Florie Maillard, Bruno Pereira, and Nathalie Boisseau declare that they have no conflicts of interest relevant to the content of this letter.

References

- Andreato LV, Magnani Branco BH, Esteves JV. Comment on: "Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis." *Sports Med.* 2018.
- Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis. *Sports Med.* 2018;48:269–88.
- Shepherd SO, Wilson OJ, Taylor AS, et al. Low-volume high-intensity interval training in a gym setting improves cardiometabolic and psychological health. *PLoS One.* 2015;10(9):e0139056.
- Arad AD, DiMenna FJ, Thomas N, et al. High-intensity interval training without weight loss improves exercise but not basal or insulin-induced metabolism in overweight/obese African American women. *J Appl Physiol.* 2015;119:352–62.
- Maillard F, Rousset S, Pereira B, et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2016;42:433–41.
- Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2016;59:56–66.
- Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clin Sci Lond.* 2015;129:1097–105.
- Hornbuckle LM, McKenzie MJ, Whitt-Glover MC. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic risk in overweight and obese African-American women: a pilot study. *Ethn Health.* 2017;1:1–15.
- Hutchison SK, Stepto NK, Harrison CL, et al. Effects of exercise on insulin resistance and body composition in overweight and obese women with and without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E48–56.
- Terada T, Friesen A, Chahal BS, et al. Feasibility and preliminary efficacy of high intensity interval training in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;99:120–9.
- Martins C, Kazakova I, Ludviksen M, et al. High-intensity interval training and isocaloric moderate-intensity continuous training result in similar improvements in body composition and fitness in obese individuals. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2016;26:197–204.
- Wallman K, Plant LA, Rakimov B, et al. The effects of two modes of exercise on aerobic fitness and fat mass in an overweight population. *Sports Med.* 2009;17:156–70.
- Keating SE, Johnson NA, Mielke GI, et al. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. *Obes Rev.* 2017;18:943–64.
- Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health.* 1998;52:377–84.
- Fex A, Leduc-Gaudet J-P, Filion M-E, et al. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre and type 2 diabetes patients a pilot study. *J Phys Act Health.* 2015;12:942–6.
- Gillen JB, Percival ME, Ludzki A, et al. Interval training in the fed or fasted state improves body composition and muscle oxidative capacity in overweight women. *Obes Silver Spring.* 2013;21:2249–55.
- Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effect of high-intensity intermittent exercise on body composition of overweight young males. *J Obes.* 2012;2012:480467.
- Kong Z, Sun S, Liu M, et al. Short-term high-intensity interval training on body composition and blood glucose in overweight and obese young women. *J Diabetes Res.* 2016;2016:4073618.
- Ramos JS, Dalleck LC, Borrani F, et al. The effect of different volumes of high-intensity interval training on proinsulin in

- participants with the metabolic syndrome: a randomised trial. *Diabetologia*. 2016;59:2308–20.
20. Tjønnå AE, Leinan IM, Bartnes AT, et al. Low- and high-volume of intensive endurance training significantly improves maximal oxygen uptake after 10-weeks of training in healthy men. *PLoS One*. 2013;8:e65382.
 21. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, et al. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes*. 2005. 2008;32:684–91.



Efficacy of high intensity interval training on weight, total and abdominal fat mass in women before and after menopause: a meta-analysis

Journal:	<i>Journal of Sport and Health Science</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Review
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Maillard, Florie Dupuit, Marine Pereira, Bruno Luis Marquezi, Marcelo Lancha Herbert Jr , Antonio Boisseau, Nathalie; Universite Clermont Auvergne, biologie santé
Keywords:	high-intensity interval training, women, fat mass loss, abdominal and visceral adipose tissue, health
Speciality:	Sport and exercise physiology

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

SCHOLARONE™
Manuscripts

For Review Only

Efficacy of high intensity interval training on weight, total and abdominal fat mass in women before and after menopause: a meta-analysis

Running Head: High intensity interval training decrease abdominal fat mass in women

Maillard Florie¹, Dupuit Marine¹, Pereira Bruno², Marcelo Luis Marquezi³, Antonio Lancha Herbert Jr³ and Boisseau Nathalie^{1,4}

¹ Université Clermont Auvergne, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), F-63000 Clermont-Ferrand, France

florie.maillard@gmail.com; marine02.96@hotmail.fr; nathalie.boisseau@uca.fr

² Université, Hôpital Clermont-Ferrand, unité de Biostatistique (DRCI), Clermont-Ferrand, France

bpereira@chu-clermontferrand.fr

³ Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, Brasil

mlmqz@usp.br; lanchajr@usp.br

⁴ CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Corresponding author

Professor Nathalie Boisseau (PhD)

Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), BP 80026, F-63171, Aubière Cedex, France.

Phone number: 00 33 4 73 40 55 19; Mailing address: nathalie.boisseau@uca.fr

ABSTRACT

Background: Estrogen deficiency at menopause favors visceral fat mass which increase the risk of developing cardiovascular diseases. High intensity interval training (HIIT) has recently been recommended to improve body composition. The purpose of this meta-analysis was to assess the efficacy of HIIT in reducing weight, total, abdominal, visceral fat mass in normal-weight and overweight/obese women before and after menopause.

Methods: A structured electronic and manual search was performed to find all publications corresponding to ours aims. Stratified analyses were performed on HIIT modalities (cycling vs running), weight and the methods used to measure body composition. A sensitivity test was conducted to analyse the effect of menopause.

Results: A total of 18 studies involving 330 subjects were included. HIIT tended to decrease body weight ($p=0.056$) and total fat mass ($p=0.078$), but significantly reduced abdominal fat mass ($p=0.022$). HIIT also decreased visceral fat mass, but this significance only appeared when CT-scan was used for the analysis. The sensitivity test showed no differences between pre- and postmenopausal women.

Conclusion: Despite the small number of studies analysed, our meta-analysis shows a possible role for HIIT-induced abdominal and visceral fat mass loss, whatever the fat mass level and hormonal status of the women

Key words: high-intensity interval training, women, fat mass loss, abdominal and visceral adipose tissue, health.

Abbreviations

BMI: Body mass index

CDV: Cardiovascular diseases

CT-scan: Computed tomography-scan

DXA: Dual-energy X-ray Absorptiometry

HIIT: High-Intensity Interval Training

MICT: Moderate-Intensity Continuous Training

MRI: Magnetic resonance imaging

For Review Only

1. Introduction

The prevalence of obesity in women increases significantly after 40 years of age due to hormonal changes, mainly estrogen deficiency¹. Numerous studies in women show an increased risk of obesity in midlife^{2,3}. At menopause, this risk increases and with it obesity-related disorders such as hypertension, hypercholesterolemia, cardiovascular diseases (CVD) and type 2 diabetes⁴. The greater occurrence of metabolic diseases seems related to body composition changes, such as an increased amount of total body fat, a loss of lean body mass and changes in body fat mass distribution⁵. In obese pre-menopausal women, the total amount of abdominal fat (including visceral fat) is lower and reduces the risk of metabolic syndrome⁶. However, after menopause, body fat distribution in these individuals shifts to a male profile (“android type”, also called central obesity) thereby increasing the risk of metabolic syndrome and CVD occurrence^{2,7}.

The rise in overweight and obesity in pre- and postmenopausal women is a major public health concern^{8,9}. To promote weight (and fat mass) loss, an energy imbalance is needed (energy input < energy output). Data from the literature show that short- and long-term programs based on nutritional recommendations alone are less effective than those also including physical activity^{10,11}. In this sense, effective fat-loss strategies must include dietary and physical activity interventions. Current international guidelines mostly suggest endurance moderate-intensity continuous training (MICT) as strategy in both men and women for weight and fat mass reduction¹², mainly because it can be maintained over a long period, thereby promoting fat mobilization and oxidation. Recently, high intensity interval training (HIIT) has been proposed as a time-efficient strategy to stimulate a number of skeletal muscle adaptations that are comparable to MICT, including increases on caloric expenditure and lipid oxidation (during and after physical activity), leading to a reduce in total fat mass^{13,14}, especially visceral fat mass, which is the most dangerous¹⁵⁻¹⁸.

1
2
3 As we know, visceral fat cells are beta-adrenergic receptor richest than other adipose cells.
4
5 HIIT comprises short bursts of high intensity exercise alternated with periods of lower
6
7 intensity effort or complete rest for recovery and promotes a strong adrenaline variations as
8
9 compare to MICT ¹⁹. The long-term success of a physical activity program in achieving
10
11 weight/fat mass loss relies essentially on adherence to the protocol. The rating of perceived
12
13 enjoyment after HIIT has been shown to be greater than with MICT ²⁰, which makes HIIT an
14
15 interesting and also a time-efficient strategy to decrease fat mass deposits including
16
17 abdominal and visceral fat mass.
18

19
20
21 All meta-analyses on HIIT-induced fat mass loss carried out so far have pooled studies on
22
23 men and women ^{14,16}. In this present review, we focused on the efficacy of HIIT in reducing
24
25 weight, total fat mass and abdominal/visceral fat mass in normal-weight and
26
27 overweight/obese women before and after menopause. The main purpose of this meta-
28
29 analysis was to assess the efficacy of HIIT in reducing weight, total fat mass and
30
31 abdominal/visceral fat mass in normal-weight and overweight/obese women before and after
32
33 menopause. The second aim was to analyze whether the nature of HIIT (cycling vs. running)
34
35 and/or the methods used to measure total and abdominal/visceral fat mass could modify the
36
37 results.
38
39
40
41
42

43 **2. Methods**

44 2.1 Literature search strategy

45
46
47
48
49 Potential studies were researched using PubMed, Google Scholar, Cochrane and Web of
50
51 Science from January 1980 to November 2017. The keywords were “high intensity interval
52
53 training” (HIIT), “high-intensity intermittent exercise” (HIIE), *or* “aerobic interval training”
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 (AIT). A manual search of reference lists and citations was conducted to find potentially
4 relevant studies. Publications in English and French were retained for analysis.
5
6
7
8
9

10 2.2 Inclusion and exclusion criteria

11
12
13 Inclusion criteria were (a) studies using HIIT protocols with running, cycling and elliptical
14 modalities without restriction concerning the duration of the protocol and the HIIT modality
15 and (b) adult women (≥ 18 years old) subjects with normal-weight and overweight or obesity,
16 measured by body mass index (BMI). Only adult women were analyzed because training
17 adaptations and substrate use differ with sex and age. Exclusion criteria were (a) studies using
18 SIT protocols and (b) high-level athletes. However, when publications referred incorrectly to
19 “SIT” or “Wingate” protocols” (*i.e.* when subjects performed with an intensity level below
20 “SIT” or “Wingate” protocols”) (*i.e.* when subjects performed with an intensity level below
21 100% of the peak heart rate), the data were included.
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

36 2.3 Data extraction

37 For each study, FM and MD separately extracted the data from all the publications with
38 advice from NB on selection criteria. We summarized the following information.
39
40

- 41 • Protocol characteristics: Exercise modality, HIIT protocol, duration and frequency;
- 42 • Population characteristics: Number of subjects, age, BMI, body composition
43 measurements, other information;
- 44 • Outcome measures: Weight, total FM, abdominal FM and visceral FM.

45
46
47
48
49 Authors of the studies selected were contacted for missing values.
50
51
52
53
54

55 2.4 Study quality

1
2
3 Study quality was assessed by FM and MD using a checklist adapted from Downs & Black,
4 and Keating and collaborators^{21,22}. Items included 19 questions about hypotheses, outcomes,
5 patient characteristics (on the basis of clearly stated inclusion and exclusion criteria),
6 randomization, interventions, life style (habitual energy expenditure or diet), descriptions of
7 patients lost to follow-up (studies with >10% dropout without characteristics reported scored
8 0), details of HIIT protocol (modality and intensity), main findings, statistical method,
9 assessment method accuracy, adverse events. If the answer to an item was “yes”, the item
10 score was 1, but if it was “no” or “unable to determine” the score was zero. If an item was
11 unable to be determined, it was scored as zero. The highest possible score for quality was 19.
12 All the studies were retained irrespective of the score obtained.
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

24 25 26 2.5 Statistical analysis 27

28
29 After extraction, the data were compiled into software designed specifically for meta-analyses
30 (Comprehensive Meta-Analysis, version 2; Biostat, Englewood, NJ). Data included were
31 sample size, and pre- and post-intervention values. The standardized mean differences (paired
32 SMD) were calculated to determine Cohen’s d for each study, and Hedges’ g was used to
33 account for potential bias in small sample sizes. Effect sizes were calculated with a random-
34 effects model (DerSimonian and Laird approach) that accounts for true variation in effects
35 occurring from study to study and for random errors within a single study. The random-
36 effects model was preferred to a fixed-effect one as certain experimental parameters had wide
37 variation. The effect sizes were interpreted according to Cohen: <0.2 trivial, 0.2–0.3 small,
38 0.5 moderate, and >0.8 large²³. A negative effect size value indicates that exercise decreased
39 outcomes while a positive effect size value indicates that exercise increased outcomes. I²
40 index was used to measure heterogeneity with 25%, 50% and 75% indicating low, moderate
41 and high heterogeneity, respectively. To test sensitivity and whether results were biased by a
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 particular study the analyses were conducted by excluding one study at a time. Funnel plots
4
5 were used to assess publication bias. In the absence of bias, studies would normally be
6
7 distributed evenly around the mean effect size because of random sampling error.
8
9

10 11 12 **3. Results**

13 3.1 Study selection

14
15
16 The search strategy identified 1156 articles from electronic databases; 9 others were found
17
18 manually. 360 publications were excluded because of duplicate keywords or after title and/or
19
20 abstract analysis. Of the remaining articles, 21 fulfilled our inclusion criteria. The total
21
22 number of publications finally included in the meta-analysis was 18: 16 for total fat mass, 7
23
24 for abdominal fat mass and 5 for visceral fat mass (Figure 1). The mean obtained after
25
26 evaluation of each trial included in our meta-analysis was 15 ± 2.6 .
27
28
29
30
31

32 Subject characteristics are summarized in table 1. Overall, 330 subjects were included in the
33
34 meta-analysis. In accordance with the inclusion criteria, women were adults, with a mean age
35
36 ranging from 19.8 ± 0.8 to 69 ± 2.8 years. All but two of the studies had recruited overweight
37
38 or obese women, whose BMI ranged from 25.4 ± 2.3 to 38.2 ± 7.9 kg/m². Some women had
39
40 diseases that could have influenced the effects of physical activity: type 2 diabetes (n=3),
41
42 polycystic ovary syndrome (n=2), hormonal state (menopause) (n=2), metabolic syndrome (n
43
44 =1) and rheumatic disease (n=1).
45
46
47

48 3.2 HIIT program characteristics

49
50
51 The HIIT programs are shown in table 2. Of the HIIT studies, 12 used cycling and 5 running,
52
53 with 1 offering a choice between the two. Only one study tested an elliptical modality. The
54
55 most widely used protocol consisted of alternate bouts of 4 min at high intensity followed by
56
57
58
59
60

1
2
3 3 min of recovery (n=5). Other programs used shorter times (8 seconds or 1 minute) at high
4 intensity. When specified, recovery was active in all but one study. The programs ranged in
5 duration from 5 to 16 weeks but generally lasted at least 10 weeks. In all but four protocols,
6 there were three HIIT sessions a week.
7
8
9

10 11 12 3.3 Body composition assessments 13

14
15 Most of the studies (n=10) used dual-energy x-ray absorptiometry (DXA), the “gold standard”
16 method, to determine whole body fat mass. Others used less accurate and/or repeatable
17 methods such as impedance (n=7), plethysmography (n=1) and skinfold measurements (n=4),
18 the last of which was recognized as the least reliable. Computed tomography-scan (CT-scan)
19 and magnetic resonance imaging (MRI) were widely used to assess abdominal or visceral fat
20 mass. The most recent DXA scans can also measure abdominal fat mass in different
21 anatomical regions^{24,25} and estimate visceral fat mass content^{26,27}.
22
23
24
25
26
27
28
29
30

31 4. Hormonal status of the women 32

33
34 Most studies were performed in premenopausal women but generally without any details
35 concerning the period of the menstrual cycle or the use of contraceptive pills. Two studies did
36 not give any information about the hormonal status of the women (*ie.* pre- or
37 *postmenopausal*) despite the age of the subjects (mean age: 52.0 ± 7.3 or 51.2 ± 6.5 years).
38
39
40
41
42 Thus, only two studies representing postmenopausal women were included in our analysis.
43
44
45

46 3.5 Meta-analysis 47

48 49 *3.5.1. Body weight* 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60

1
2
3 Figure 2 shows a trend for HIIT decreasing body weight (ES: -0.2 [95% CI: -0.34 to 0.01], I^2
4 = 0.0 %) ($p=0.056$). The same trend was observed in pre- and postmenopausal women
5 (p=0.057).
6
7

8 9 10 3.5.2. Total fat mass

11
12 As shown in Figure 3a, a non-significant total fat mass loss was identified (ES: -0.2 [95% CI:
13 -0.36 to 0.02], I^2 = 0.0 %) ($p=0.078$). Stratified analysis of exercise modalities showed no
14 difference between running (ES: -0.1 [95% CI: -0.45 to 0.22] ($p=0.5$), I^2 = 0.0 %) and cycling
15 (ES: -0.2 [95% CI: -0.5 to 0.03], I^2 = 0.0 %) ($p=0.09$) (Figure 3b). Any change in total fat
16 mass loss was recorded regardless of whether bioelectrical impedance analysis,
17 plethysmography, skinfold test or DXA was used as the measurement method ($p \geq 0.05$)
18 (Figure 3c). The same non-significant difference was observed when overweight/obese (ES: -
19 0.2 [95% CI: -0.36 to 0.03], I^2 = 0.0 %) ($p=0.096$) and normal weight subjects (ES: -0.3 [95%
20 CI: -1.2 to 0.6], I^2 = 0.0 %) ($p=0.53$) were considered separately (Figure 3d). Comparison of
21 pre- and postmenopausal women did not show any differences ($p=0.077$).
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

35 3.5.3. Abdominal fat mass

36
37 HIIT significantly reduced abdominal fat mass (ES: -0.3 [95% CI: -0.52 to -0.04], I^2 = 0.0 %)
38 ($p=0.022$) (Figure 4a). When the results were stratified from exercise modalities, only cycling
39 reduced abdominal fat mass (ES: -0.3 [95% CI: -0.60 to -0.05], I^2 = 0.0 %) ($p=0.020$) and no
40 effect was found in running protocols (ES: -0.1 [95% CI: -0.65 to 0.39], I^2 = 0.0 %) ($p=0.620$)
41 (Figure 4b). The second stratified analysis, involving method assessment, showed that only
42 CT-scan (ES: -0.5 [95% CI: -0.87 to -0.12], I^2 = 0.0 %) ($p=0.010$) detected reductions in
43 abdominal fat mass after HIIT (Figure 4c). HIIT is only effective in decreasing abdominal fat
44 mass in women with excess adiposity (ES: -0.3 [95% CI: -0.55 to -0.02], I^2 = 0.0 %)
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 (p=0.036) (Figure 4d). When only premenopausal women were taken into consideration, the
4
5 significance persisted (p=0.034).
6

7 8 3.5.4. *Visceral fat mass* 9

10
11 As shown in Figure 5a, a non-significant difference was identified toward HIIT-induced
12 visceral fat mass loss (ES: -0.3 [95% CI: -0.61 to 0.02], $I^2 = 0.0\%$) (p=0.066). However,
13
14 when only computer tomography (CT) scan, the gold standard for measuring visceral fat
15 mass, was used, visceral fat mass loss was significantly decreased with HIIT programs (ES: -
16
17 0.3 [95% CI: -0.69 to 0.01], $I^2 = 0.0\%$) (p= 0.05) (Figure 5b). A stratified analysis showed no
18
19 greater effect with running (ES: -0.4 [95% CI: -0.84 to 0.13], $I^2 = 0.0\%$) (p=0.156) or cycling
20
21 programs (ES: -0.3 [95% CI: -0.74 to 0.16], $I^2 = 0.0\%$) (p=0.210) (Figure 5c). A non-
22
23 significant difference was identified concerning a potential greater effect of HIIT in
24
25 overweight/obese subjects (ES: -0.2 [95% CI: -0.65 to 0.19], $I^2 = 0.0\%$) (p=0.061) (Figure
26
27 5d). As reported for total and abdominal fat mass, when only postmenopausal women were
28
29 taken into consideration, the results persisted (p=0.071).
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

4. Discussion

The present study is the first meta-analysis to assess the effect of HIIT on body weight and total, abdominal and visceral fat mass loss in pre- and postmenopausal women. The review involved 330 women aged between 19.8 ± 0.8 and 69 ± 2.8 years, weighing from 25.4 ± 2.3 to 38.2 ± 7.9 kg.m². The small number of women investigated in the 18 studies could explain the lack of significance body weight ($p=0.056$) and total fat mass ($p=0.078$). This needs to be confirmed with larger study samples. However, our results showed that HIIT, especially cycling programs, are really effective in significantly reducing abdominal fat mass in women whatever their hormonal status, either pre- or postmenopausal. We also observed that CT-scan or MRI studies are probably the best methods of measurement for detecting abdominal and/or visceral fat mass changes after HIIT interventions.

The primary findings of our meta-analysis indicate a possible role for HIIT-induced body weight loss ($p=0.056$). However, food intake was not always measured in the studies analyzed, which makes the interpretation of the results difficult. Nevertheless, the (almost significant) trend obtained with a small number of subjects ($n=252$) suggests that HIIT could be an effective strategy for losing weight. No differences were shown between normal weight and overweight women nor between pre- and postmenopausal women, which suggests that HIIT is effective regardless of the body composition and hormonal status of the women at baseline.

The second aim of our meta-analysis was to assess the potential effect of HIIT programs on total fat mass loss. Here again, we found only a trend toward loss ($p=0.078$). The lack of significance in stratified analysis (weight, modality and hormonal status) does not provide details on the effect of HIIT on total fat mass changes. In a previous analysis pooling men and women subjects, Maillard et al. found a significant decrease in total fat mass following HIIT programs without any sex differences¹⁶. Thus, the smaller number of subjects included in our

1
2
3 review could explain why the meta-analysis identified some almost non-significant trends
4
5 concerning weight and total fat mass.
6

7
8 The results we obtained on abdominal fat mass are much more interesting since the effects
9
10 seem great enough to be significant despite the small number of studies and subjects
11
12 analyzed. Two recent meta-analyses showed that diet and training alone can significantly alter
13
14 abdominal/visceral fat mass but generally to a greater extent with exercise^{28,29}. In agreement
15
16 with the previous meta-analysis of Maillard et al. performed in both sexes, we found that
17
18 HIIT significantly decreased abdominal fat mass whatever the hormonal status of the women,
19
20 pre- or postmenopausal. In contrast, analysis of all the studies included, whatever the method
21
22 of measurement used, showed no clear-cut effect on visceral fat mass, identifying merely a
23
24 trend ($p=0.066$). However, when different non-accurate methods were separated by the
25
26 stratified procedure (bioelectrical impedance analysis was removed), the result became
27
28 significant. Thus, as already shown by Shuster et al., it is important to take into consideration
29
30 the method of measuring visceral fat mass before coming to a conclusion³⁰. Finally, when
31
32 statistical analysis was performed only in normal weight subjects, the results did not show any
33
34 effect of HIIT on abdominal fat mass. However, abdominal fat mass in normal weight women
35
36 was analyzed in only two publications in this meta-analysis. HIIT interventions in
37
38 overweight/obese patients although of potential benefit to health have been less widely
39
40 investigated than HIIT-induced fat mass loss in normal-weight subjects. This probably
41
42 explains the small number of studies ($n=2$) in our meta-analysis dealing with normal-weight
43
44 patients. As abdominal fat mass (including visceral fat mass) is more implicated in obesity-
45
46 related disorders than total fat mass and body weight, further studies investigated HIIT are
47
48 needed. Our analysis also showed that abdominal fat mass loss was more pronounced in
49
50 cycling HIIT. However, the lack of full information concerning the two programs (cycle
51
52 ergometer used, revolutions per min, resistance, watts, and heart rate in cycling protocols, and
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 speed, gradient treadmill, and heart rate in running protocols) sometimes makes it difficult to
4
5 compare the two modalities or two studies using the same modality. Thus, future studies with
6
7 more details about the protocol used are needed to establish the best HIIT program to achieve
8
9 greater total and abdominal/visceral fat mass loss in women.
10

11
12 We chose to include only women in our analysis because a) sex differences affect substrate
13
14 utilization and body composition and b) women's body composition and substrate utilization
15
16 change after menopause. Premenopausal women have more adipose tissue in the gluteal
17
18 region, which lowers their risk of developing CVD, whereas men accumulate excess fat mass
19
20 at the abdominal level, including the visceral region ^{31,32}. At menopause and after, women
21
22 tend to develop a male morphotype owing to estrogen deficiency ^{2,7}. These changes induce
23
24 sex differences in energy metabolism at rest and during exercise with a significant shift
25
26 toward fat oxidation at rest, but also during exercise ³¹. However, in premenopausal women,
27
28 oral contraceptives can also interfere with energy metabolism, altering lipolytic activity as
29
30 well as fat cell distribution ³³ and influencing the time course of physiological training
31
32 adaptations ³⁴. In our study, the sensitivity test performed showed no significant effect
33
34 regardless of hormonal status (pre- or postmenopausal) or the parameters analyzed (body
35
36 weight, total, abdominal and visceral fat mass). Only two studies have investigated the effects
37
38 of HIIT on post-menopausal women, and the lack of detail in studies of premenopausal
39
40 women regarding the period of the menstrual status or the use of oral contraceptives could
41
42 introduce bias into the interpretation of the results. Further studies are still needed, therefore,
43
44 to confirm a potential different impact of HIIT depending on each woman's individual
45
46 hormonal status.
47
48
49

50
51 The mechanisms responsible for the greater abdominal and visceral fat mass loss seen with
52
53 HIIT than with MICT are unknown. HIIT is an effective exercise modality to increase
54
55 circulating free fatty acid levels during exercise and to promote greater fat oxidation during
56
57
58
59
60

1
2
3 the recovery period. As the content of β -adrenergic receptors is higher in visceral than in sub-
4 cutaneous adipose tissue ³⁵, the greater activation of the sympathetic nervous system (by
5 noradrenaline release) during HIIT could explain the higher reliance on visceral adipose tissue
6 during this type of training. In addition, visceral adipose tissue has smaller adipocytes ³⁶,
7 higher lipolytic activity ³⁷ and lower responses to the anti-lipolytic effects of insulin ³⁸
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17 **5. Conclusion**

18
19
20 This is the first meta-analysis to investigate HIIT-induced body composition changes in
21 women before and after menopause. Despite the small number of studies those fits in this
22 meta-analysis (18) and total subjects included (330) we show that HIIT programs tend to
23 decrease weight and total fat mass and are effective in achieving abdominal and visceral fat
24 mass loss, whatever the fat mass level and hormonal status of the women at baseline. Our
25 analysis showed that appropriate methods of measurement are required to detect visceral fat
26 mass loss. However, further studies are still needed to establish the best HIIT protocols to
27 exert the greatest effects on body composition. This is an important concern, especially in
28 postmenopausal women suffering from an increase in abdominal/visceral adipose tissue,
29 which leads to a higher risk of developing CVD.
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 **Declaration of interest:** None.
4

5 **Competing Interests:** None of the authors declare competing financial interests.
6
7

8 **Funding:** This research did not receive any specific grant from funding agencies in the
9 public, commercial, or not-for-profit sectors.
10
11

12
13 **Authors' contributions:**
14

15
16 Maillard Florie wrote the manuscript, participated in data acquisition and interpretation.
17
18 Dupuit Marine participated in manuscript writing and data acquisition. Pereira Bruno carried
19
20 out statistical analysis, Marcelo Luis Marquezi and Antonio Lancha Herbert Jr participated in
21
22 manuscript reviewing/revising, Boisseau Nathalie participated in manuscript writing and
23
24 supervising data acquisition and interpretation.
25
26

27 All authors have read and approved the final version of the manuscript, and agree with the
28
29 order of presentation of the authors.
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

References

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *JAMA* 2010;**303**:235–41. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.2014>.
2. Kapoor E, Collazo-Clavell ML, Faubion SS. Weight Gain in Women at Midlife: A Concise Review of the Pathophysiology and Strategies for Management. *Mayo Clin Proc* 2017;**92**:1552–8. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.08.004>.
3. Lizcano F, Guzmán G. Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause. *BioMed Res Int* 2014;**2014**:757461. <https://doi.org/10.1155/2014/757461>.
4. Merz AA, Cheng S. Sex differences in cardiovascular ageing. *Heart Br Card Soc* 2016;**102**:825–31. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2015-308769>.
5. Abildgaard J, Pedersen AT, Green CJ, Harder-Lauridsen NM, Solomon TP, Thomsen C, et al. Menopause is associated with decreased whole body fat oxidation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;**304**:E1227-1236. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00492.2012>.
6. Krotkiewski M, Björntorp P, Sjöström L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983;**72**:1150–62. <https://doi.org/10.1172/JCI111040>.
7. Karvonen-Gutierrez C, Kim C. Association of Mid-Life Changes in Body Size, Body Composition and Obesity Status with the Menopausal Transition. *Healthc Basel Switz* 2016;**4**. <https://doi.org/10.3390/healthcare4030042>.
8. Awa WL, Fach E, Krakow D, Welp R, Kunder J, Voll A, et al. Type 2 diabetes from pediatric to geriatric age: analysis of gender and obesity among 120,183 patients from the German/Austrian DPV database. *Eur J Endocrinol* 2012;**167**:245–54. <https://doi.org/10.1530/EJE-12-0143>.
9. Wietlisbach V, Marques-Vidal P, Kuulasmaa K, Karvanen J, Paccaud F, WHO MONICA Project. The relation of body mass index and abdominal adiposity with dyslipidemia in 27 general populations of the WHO MONICA Project. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD* 2013;**23**:432–42. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.09.002>.
10. Hassan Y, Head V, Jacob D, Bachmann MO, Diu S, Ford J. Lifestyle interventions for weight loss in adults with severe obesity: a systematic review. *Clin Obes* 2016;**6**:395–403. <https://doi.org/10.1111/cob.12161>.
11. Johns DJ, Hartmann-Boyce J, Jebb SA, Aveyard P, Behavioural Weight Management Review Group. Diet or exercise interventions vs combined behavioral weight management programs: a systematic review and meta-analysis of direct comparisons. *J Acad Nutr Diet* 2014;**114**:1557–68. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.07.005>.
12. Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK, et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention

- 1
2
3 strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports*
4 *Exerc* 2009;**41**:459–71. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181949333>.
5
6 13. Boutcher SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. *J Obes*
7 2011;**2011**:868305. <https://doi.org/10.1155/2011/868305>.
8
9 14. Wewege M, van den Berg R, Ward RE, Keech A. The effects of high-intensity interval
10 training vs. moderate-intensity continuous training on body composition in overweight
11 and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev Off J Int Assoc Study*
12 *Obes* 2017;**18**:635–46. <https://doi.org/10.1111/obr.12532>.
13
14 15. Maillard F, Rousset S, Pereira B, Traore A, de Pradel Del Amaze P, Boirie Y, et al.
15 High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women
16 with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2016;**42**:433–41.
17 <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2016.07.031>.
18
19 16. Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Effect of High-Intensity Interval Training on Total,
20 Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis. *Sports Med Auckl NZ*
21 2018;**48**:269–88. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0807-y>.
22
23 17. Trapp EG, Chisholm DJ, Boutcher SH. Metabolic response of trained and untrained
24 women during high-intensity intermittent cycle exercise. *Am J Physiol Regul Integr*
25 *Comp Physiol* 2007;**293**:R2370-2375. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00780.2006>.
26
27 18. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity
28 intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J*
29 *Obes* 2008;**32**:684–91. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803781>.
30
31 19. Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with
32 lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J*
33 *Sports Med* 2014;**48**:1227–34. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2013-092576>.
34
35 20. Thum JS, Parsons G, Whittle T, Astorino TA. High-Intensity Interval Training Elicits
36 Higher Enjoyment than Moderate Intensity Continuous Exercise. *PloS One*
37 2017;**12**:e0166299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166299>.
38
39 21. Keating SE, Johnson NA, Mielke GI, Coombes JS. A systematic review and meta-
40 analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body
41 adiposity. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes* 2017. <https://doi.org/10.1111/obr.12536>.
42
43 22. Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the
44 methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care
45 interventions. *J Epidemiol Community Health* 1998;**52**:377–84.
46
47 23. Cohen J. A power primer. *Psychol Bull* 1992;**112**:155–9.
48
49 24. Gillen JB, Percival ME, Ludzki A, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Interval training in the
50 fed or fasted state improves body composition and muscle oxidative capacity in
51 overweight women. *Obes Silver Spring* 2013;**21**:2249–55.
52 <https://doi.org/10.1002/oby.20379>.
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
25. Hutchison SK, Stepto NK, Harrison CL, Moran LJ, Strauss BJ, Teede HJ. Effects of exercise on insulin resistance and body composition in overweight and obese women with and without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;**96**:E48-56. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0828>.
 26. Fex A, Leduc-Gaudet J-P, Filion M-E, Karelis AD, Aubertin-Leheudre M. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre and type 2 diabetes patients a pilot study. *J Phys Act Health* 2015;**12**:942-6. <https://doi.org/10.1123/jpah.2014-0123>.
 27. Sawyer BJ, Tucker WJ, Bhammar DM, Ryder JR, Sweazea KL, Gaesser GA. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on endothelial function and cardiometabolic risk markers in obese adults. *J Appl Physiol* 2016;**121**:279-88. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00024.2016>.
 28. Verheggen RJHM, Maessen MFH, Green DJ, Hermus ARMM, Hopman MTE, Thijssen DHT. A systematic review and meta-analysis on the effects of exercise training versus hypocaloric diet: distinct effects on body weight and visceral adipose tissue. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes* 2016;**17**:664-90. <https://doi.org/10.1111/obr.12406>.
 29. Vissers D, Hens W, Hansen D, Taeymans J. The Effect of Diet or Exercise on Visceral Adipose Tissue in Overweight Youth. *Med Sci Sports Exerc* 2016;**48**:1415-24. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000888>.
 30. Shuster A, Patlas M, Pinthus JH, Mourtzakis M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol* 2012;**85**:1-10. <https://doi.org/10.1259/bjr/38447238>.
 31. Bredella MA. Sex Differences in Body Composition. *Adv Exp Med Biol* 2017;**1043**:9-27. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3_2.
 32. Santilli F, D'Ardes D, Guagnano MT, Davi G. Metabolic Syndrome: Sex-Related Cardiovascular Risk and Therapeutic Approach. *Curr Med Chem* 2017;**24**:2602-27. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170710121145>.
 33. Isacco L, Thivel D, Meddahi-Pelle A, Lemoine-Morel S, Duclos M, Boisseau N. Exercise per se masks oral contraceptive-induced postprandial lipid mobilization. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appl Nutr Metab* 2014;**39**:1222-9. <https://doi.org/10.1139/apnm-2014-0053>.
 34. Schaumberg MA, Jenkins DG, Janse DE Jonge XAK, Emmerton LM, Skinner TL. Oral Contraceptive Use Dampens Physiological Adaptations to Sprint Interval Training. *Med Sci Sports Exerc* 2017;**49**:717-27. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001171>.
 35. Rebuffé-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Björntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism* 1989;**38**:453-8.
 36. Salans LB, Cushman SW, Weismann RE. Studies of human adipose tissue. Adipose cell size and number in nonobese and obese patients. *J Clin Invest* 1973;**52**:929-41. <https://doi.org/10.1172/JCI107258>.

- 1
2
3 37. Ostman J, Arner P, Engfeldt P, Kager L. Regional differences in the control of lipolysis
4 in human adipose tissue. *Metabolism* 1979;**28**:1198–205.
5
6 38. Bolinder J, Kager L, Ostman J, Arner P. Differences at the receptor and postreceptor
7 levels between human omental and subcutaneous adipose tissue in the action of insulin
8 on lipolysis. *Diabetes* 1983;**32**:117–23.
9
10 39. Almenning I, Rieber-Mohn A, Lundgren KM, Shetelig Løvvik T, Garnæs KK, Moholdt
11 T. Effects of High Intensity Interval Training and Strength Training on Metabolic,
12 Cardiovascular and Hormonal Outcomes in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A
13 Pilot Study. *PLoS One* 2015;**10**:e0138793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138793>.
14
15 40. Álvarez C, Ramírez-Campillo R, Ramírez-Vélez R, Izquierdo M. Prevalence of Non-
16 responders for Glucose Control Markers after 10 Weeks of High-Intensity Interval
17 Training in Adult Women with Higher and Lower Insulin Resistance. *Front Physiol*
18 2017;**8**:479. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00479>.
19
20 41. Alves ED, Salermo GP, Panissa VLG, Franchini E, Takito MY. Effects of long or short
21 duration stimulus during high-intensity interval training on physical performance, energy
22 intake, and body composition. *J Exerc Rehabil* 2017;**13**:393–9.
23 <https://doi.org/10.12965/jer.1734962.481>.
24
25 42. Arad AD, DiMenna FJ, Thomas N, Tamis-Holland J, Weil R, Geliebter A, et al. High-
26 intensity interval training without weight loss improves exercise but not basal or insulin-
27 induced metabolism in overweight/obese African American women. *J Appl Physiol*
28 2015;**119**:352–62. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00306.2015>.
29
30 43. Connolly LJ, Bailey SJ, Krstrup P, Fulford J, Smietanka C, Jones AM. Effects of self-
31 paced interval and continuous training on health markers in women. *Eur J Appl Physiol*
32 2017;**117**:2281–93. <https://doi.org/10.1007/s00421-017-3715-9>.
33
34 44. Coquart JBJ, Lemaire C, Dubart A-E, Luttenbacher D-P, Douillard C, Garcin M.
35 Intermittent versus continuous exercise: effects of perceptually lower exercise in obese
36 women. *Med Sci Sports Exerc* 2008;**40**:1546–53.
37 <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31816fc30c>.
38
39 45. Eimarieskandari R, Zilaeibouri S, Zilaeibouri M, Ahangarpour A. Comparing two modes
40 of exercise training with different intensity on body composition in obese young girls.
41 *Sci Mov Health* 12th, 473rd–8th ed. 2012;
42
43 46. Hornbuckle LM, McKenzie MJ, Whitt-Glover MC. Effects of high-intensity interval
44 training on cardiometabolic risk in overweight and obese African-American women: a
45 pilot study. *Ethn Health* 2017:1–15. <https://doi.org/10.1080/13557858.2017.1294661>.
46
47 47. Kong Z, Sun S, Liu M, Shi Q. Short-Term High-Intensity Interval Training on Body
48 Composition and Blood Glucose in Overweight and Obese Young Women. *J Diabetes*
49 *Res* 2016;**2016**. <https://doi.org/10.1155/2016/4073618>.
50
51 48. Panissa VLG, Julio UF, França V, Lira FS, Hofmann P, Takito MY, et al. Sex-Related
52 Differences in Self-Paced All Out High-Intensity Intermittent Cycling: Mechanical and
53 Physiological Responses. *J Sports Sci Med* 2016;**15**:372–8.
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
49. Sandstad J, Stensvold D, Hoff M, Nes BM, Arbo I, Bye A. The effects of high intensity interval training in women with rheumatic disease: a pilot study. *Eur J Appl Physiol* 2015;**115**:2081–9. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3186-9>.
50. Steckling FM, Farinha JB, Santos DLD, Bresciani G, Mortari JA, Stefanello ST, et al. High Intensity Interval Training Reduces the Levels of Serum Inflammatory Cytokine on Women with Metabolic Syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc* 2016;**124**:597–601. <https://doi.org/10.1055/s-0042-111044>.
51. Zhang H, Tong TK, Qiu W, Wang J, Nie J, He Y. Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: A randomized controlled trial. *Kinesiology* 2015;**47**:57–66.
52. Zhang H, Tong TK, Qiu W, Zhang X, Zhou S, Liu Y, et al. Comparable effects of high-intensity interval training and prolonged continuous exercise training on abdominal Visceral fat reduction in obese young women. *J Diabetes Res* 2017;**2017**:5071740. <https://doi.org/10.1155/2017/5071740>.

Figure legends

Figure 1: Flow diagram of the systematic reviewing process

Figure 2: Forest plot for the effect of high-intensity interval training on body weight (kg). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

Figure 3: Forest plot for the effect of high-intensity interval training on total fat mass (kg) (a), with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

Figure 4: Forest plot for the effect of high-intensity interval training on abdominal fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different HIIT protocols or patient characteristics or different levels of abdominal analysis or different methods of body composition measurements.

Figure 5: Forest plot for the effect of high-intensity interval training on visceral fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different patient characteristic.

Identification

Records identified through electronic database searching (n=1156)

Additional records identified through manual search (n=9)



Screening

Records screened (n=405)

Records excluded (n=360)



Eligibility

Full-text assessed For eligibility (n=21)

Full-text articles excluded (n=3)
• Parameters not compatible with other (n= 2)
• Missing and/or incomplete data (n= 1)



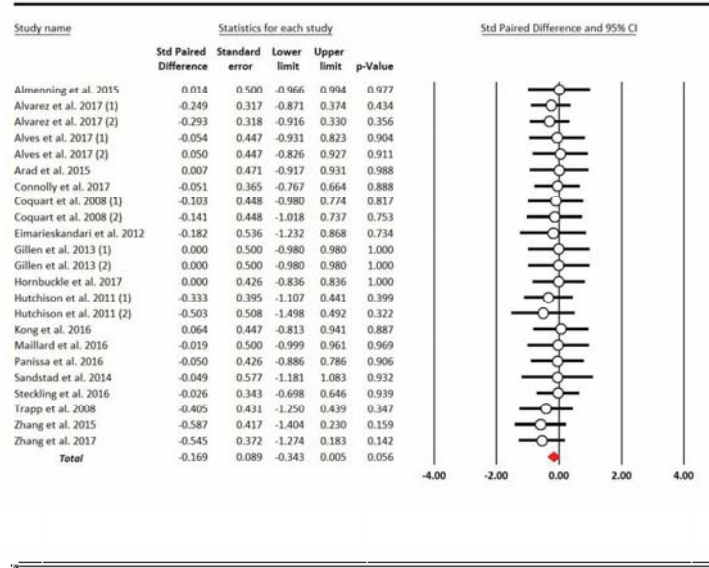
Included

Studies included in quantitative synthesis (n=18)



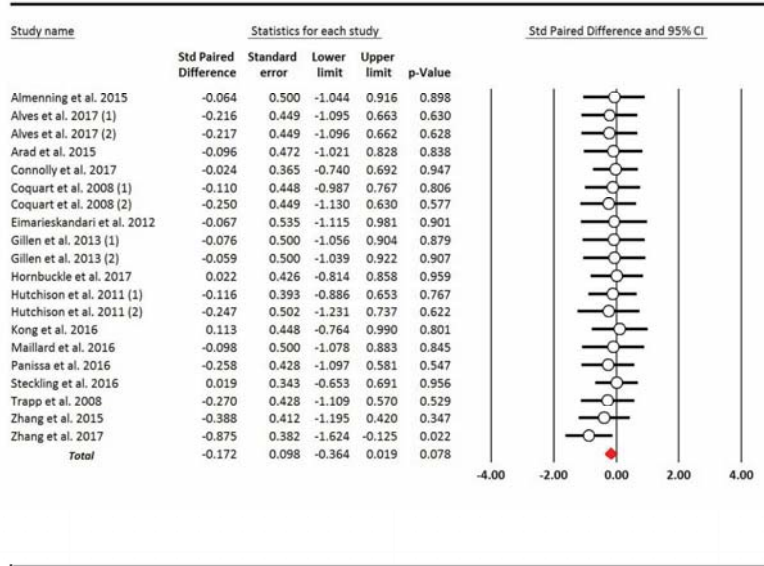
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



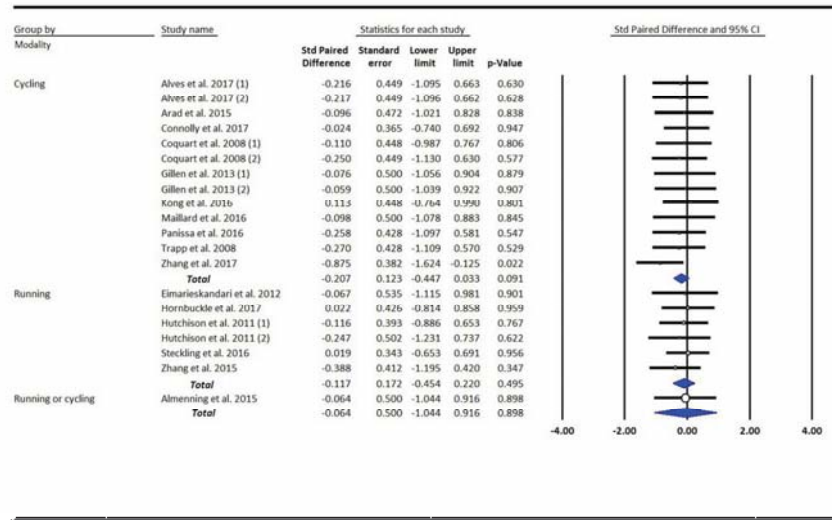
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on body weight (kg). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

447x336mm (96 x 96 DPI)



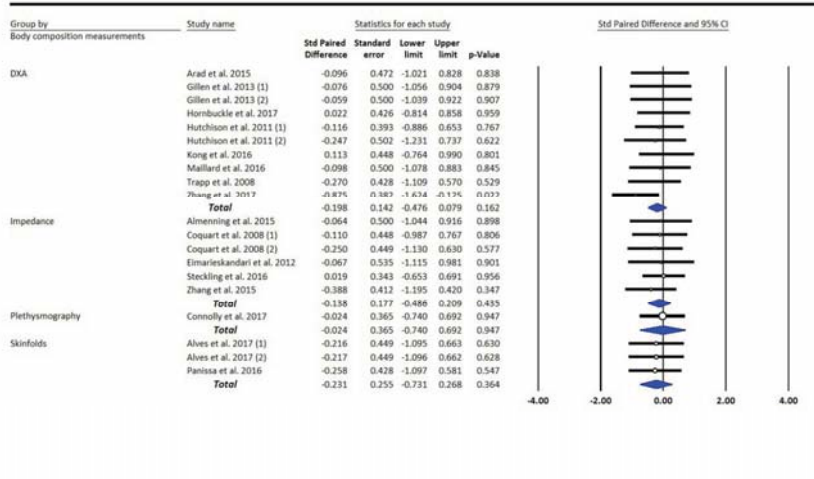
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on total fat mass (kg) (a), with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

447x336mm (96 x 96 DPI)



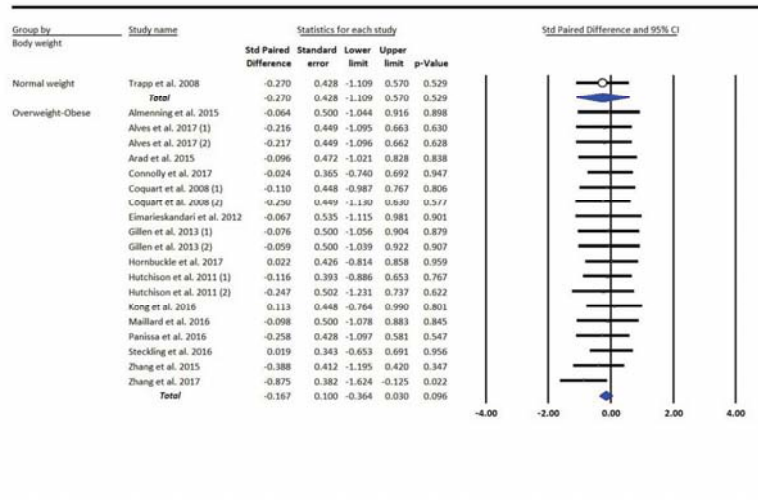
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on total fat mass (kg) (a), with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

447x336mm (96 x 96 DPI)



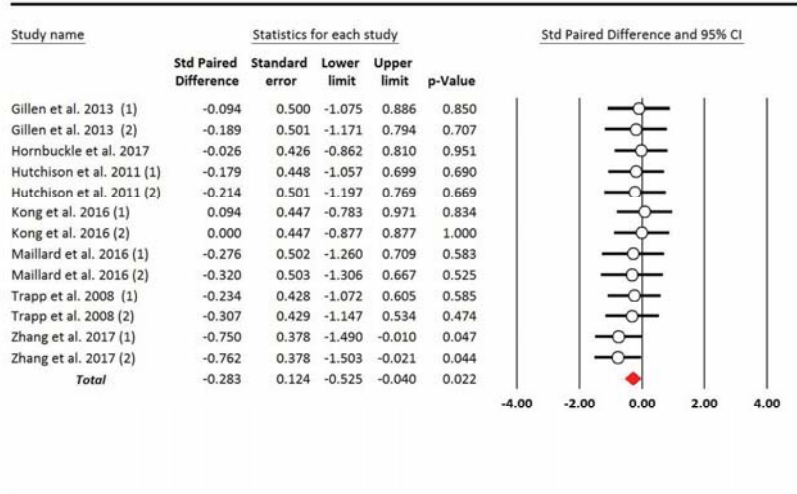
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on total fat mass (kg) (a), with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

447x336mm (96 x 96 DPI)



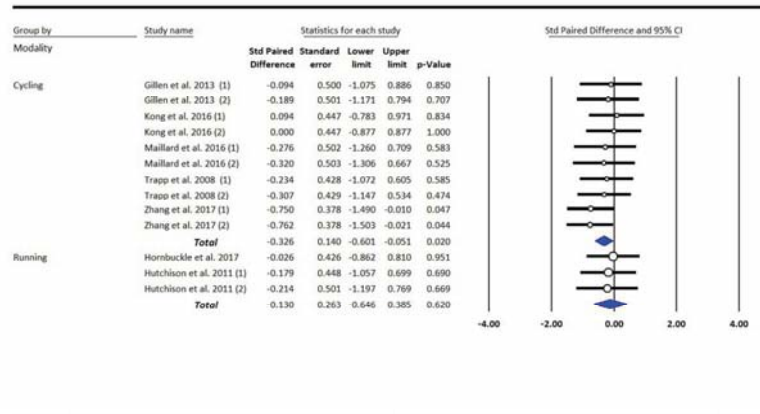
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on total fat mass (kg) (a), with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; Std: standardized. 1 and 2 represent the same study but different HIIT protocols.

447x336mm (96 x 96 DPI)



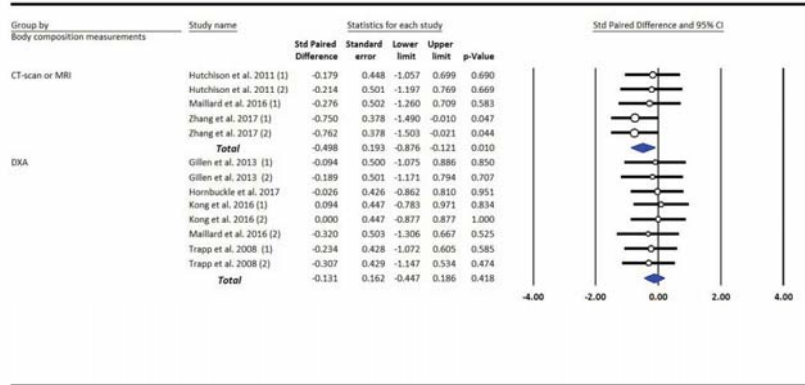
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on abdominal fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different HIIT protocols or patient characteristics or different levels of abdominal analysis or different methods of body composition measurements.

447x336mm (96 x 96 DPI)



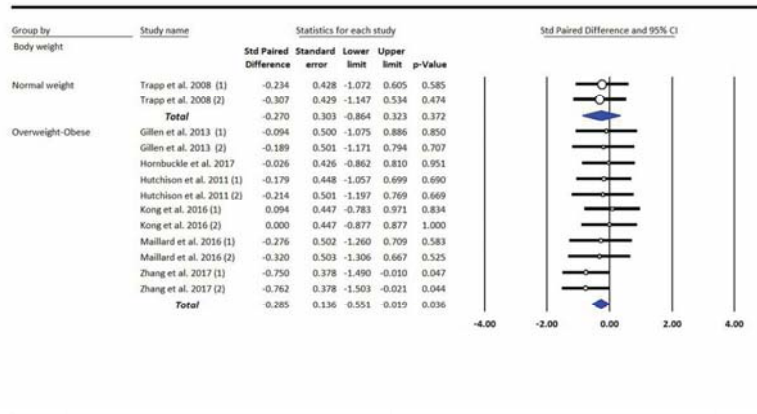
Forest plot for the effect of high-intensity interval training on abdominal fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different HIIT protocols or patient characteristics or different levels of abdominal analysis or different methods of body composition measurements.

447x336mm (96 x 96 DPI)



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on abdominal fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different HIIT protocols or patient characteristics or different levels of abdominal analysis or different methods of body composition measurements.

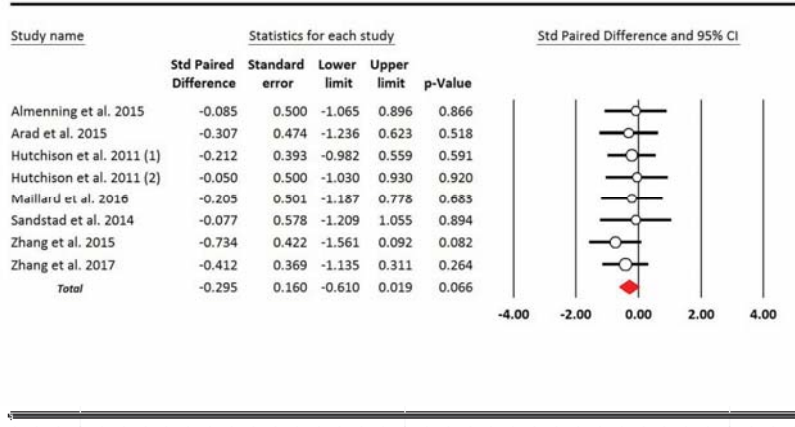
447x336mm (96 x 96 DPI)



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on abdominal fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different HIIT protocols or patient characteristics or different levels of abdominal analysis or different methods of body composition measurements.

447x336mm (96 x 96 DPI)

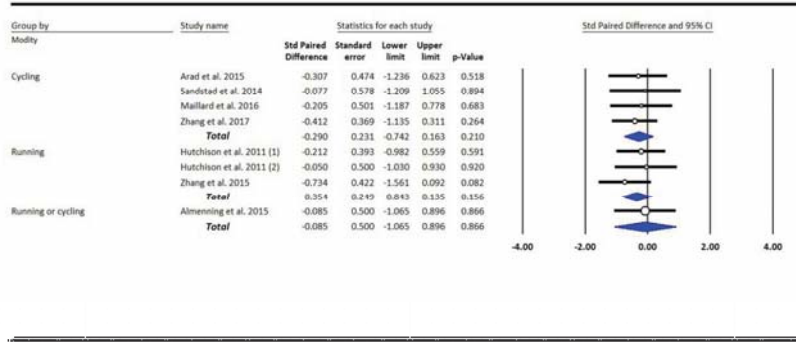
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on visceral fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different patient characteristic.

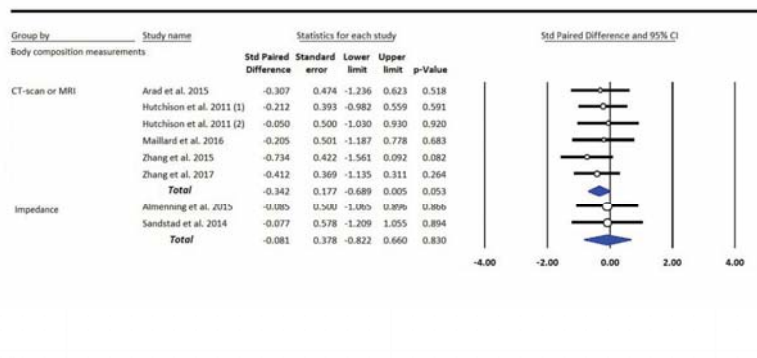
447x336mm (96 x 96 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on visceral fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different patient characteristic.

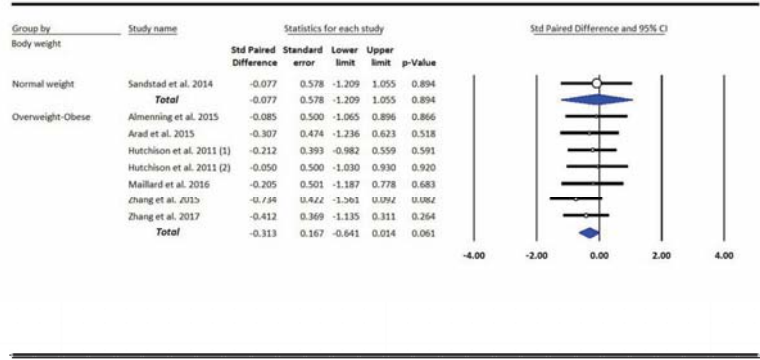
447x336mm (96 x 96 DPI)



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on visceral fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different patient characteristic.

447x336mm (96 x 96 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Forest plot for the effect of high-intensity interval training on visceral fat mass (a) with stratified analysis of exercise modalities (b), methods of measuring body composition (c), and body weight (d). CI: confidence interval; CT: computed tomography; MRI: Magnetic resonance imaging; Std: standardized. (1) and (2) represent the same study but different patient characteristic.

447x336mm (96 x 96 DPI)

Table 1: Characteristics of studies and subjects included in the review.

Study	Number of subjects in HIT group	Age (years)	BMI (kg/m ²)	Body composition measurements	Other
Almeming et al. 2015 ³⁹	10	25.5 ± 5.0	26.1 ± 6.5	Impedance	Polycystic ovary syndrome
Alvarez et al. 2017 ⁴⁰	49	40.0 ± 6.0	29.5 ± 3.7	Circumferences and skinfolds	Overweight/obese women High IR but no T2D
Alvarez et al. 2017 ⁴⁰	29	35.0 ± 9.0	27.8 ± 2.8	Circumferences and skinfolds	Overweight/obese women Low IR but no T2D
Alves et al. 2017 ⁴¹	10	25.5 ± 5.0	25.4 ± 3.9	Skinfolds	Untrained Women
Alves et al. 2017 ⁴¹	10	25.5 ± 5.0	26.0 ± 4.4	Skinfolds	Untrained Women
Arad et al. 2015 ⁴²	14	29.0 ± 4.0	32.5 ± 3.6	DXA VAT : MRI	Healthy overweight/obese women
Connolly et al. 2017 ⁴³	16	44.0 ± 7.0	25.3 ± 3.9	Plethysmography	Inactive pre-menopausal women
Coquart et al. 2008 ⁴⁴	10	52.0 ± 7.3	38.2 ± 7.9	Impedance	Obese women T2D
Coquart et al. 2008 ⁴⁴	10	51.2 ± 6.5	37.0 ± 3.8	Impedance	Obese women without T2D
Eimarieskandari et al. 2012 ⁴⁵	7	22.3 ± 0.9	29.2 ± 0.8	Impedance	Obese young girl
Gillen et al. 2013 ²⁴	8	27.0 ± 7.0	29.0 ± 3.0	DXA	Overweight/obese women- Fed
Gillen et al. 2013 ²⁴	8	27.0 ± 9.0	29.0 ± 4.0	DXA	Overweight/obese women - Fasted
Hornbuckle et al. 2017 ⁴⁶	16	32.1 ± 7.0	36.8 ± 4.3	DXA	Overweight and obese African-American women

Table 1 : continued

Study	Number of subjects in HIIT group	Age (years)	BMI (kg/m ²)	Body composition measurements	Other
Hutchison et al. 2011 ²⁵	20	29.5 ± 1.4	37.4 ± 1.5	DXA VAT : CT-scan	Overweight women - Polycystic ovary syndrome
Hutchison et al. 2011 ²⁵	14	35.0 ± 4.1	35.7 ± 4.9	DXA VAT : CT-scan	Overweight women - No polycystic ovary syndrome
Kong et al. 2016 ⁴⁷	11	19.8 ± 0.8	25.5 ± 2.1	DXA	Overweight and obese young women
Maillard et al. 2016 ¹⁵	8	69.0 ± 2.8	32.6 ± 4.8	DXA VAT : CT-scan	T2D postmenopausal
Pamissa et al. 2016 ⁴⁸	11	28.4 ± 12.5	25.94 ± 4.1	Skinfold	Untrained women
Sandstad et al. 2014 ⁴⁹	7	32.4 ± 8.3	24.8 ± 4.9	Impedance	Rheumatic disease
Steckling et al. 2016 ⁵⁰	17	54.2 ± 6.2	30.7 ± 5.0	Impedance	Untrained metabolic syndrome women
Trapp et al. 2008 ¹⁸	15	22.4 ± 2.7	24.4 ± 5.8	DXA	Healthy normal-weight women
Zhang et al. 2015 ⁵¹	14	21.0 ± 1.0	25.8 ± 2.7	Impedance VAT : CT-scan	Overweight women
Zhang et al. 2017 ⁵²	16	21.5 ± 1.7	25.4 ± 2.4	DXA VAT : CT-scan	Overweight women

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

Data expressed as: mean \pm standard deviation (SD); in instances where the results present as mean \pm standard error (SEM), SEM was converted to SD.

Abbreviations: BMI: body mass index; CT: computed tomography; DXA: dual-energy x-ray absorptiometry; FM: fat mass; HIIT: high-intensity interval training; IR: insulin resistance; MRI: magnetic resonance imaging; T2D: type 2 diabetes; VAT: visceral adipose tissue.

For Review Only

Table 2: HIIT protocol details

Study	Exercise modality	HIIT protocol	Duration	Frequency (/week)
Almenning et al. 2015 ³⁹	Running or cycling	4x [4' (90-95%HRmax) / 3' (70%HRmax)] + 1/week : 10' : 1' (100% of max effort) / 1'	10 weeks	3
Alvarez et al. 2017 ⁴⁰	Cycling	8 à 12 x [60s (70 à 100%HRmax) - 120s passive]	10 weeks	3
Alves et al. 2017 ⁴¹	Cycling	15x [1' (90% HRmax) / 30s(60%HRmax)]	6 weeks	3
Alves et al. 2017 ⁴¹	Cycling	45x [20s (90% HRmax) / 10s(60%HRmax)]	6 weeks	3
Arad et al. 2015 ⁴²	Cycling	24' [30-60s (75-90% HRR) / 180-210 (50% HRR)]	14 weeks	3
Connolly et al. 2017 ⁴³	Cycling	5x 5min [10s (>90%HRmax) - 20s (50-60%HRmax) - 30s	12 weeks	3
Coquart et al. 2008 ⁴⁴	Cycling	32' : 2' (80% VT) / 2' (120% VT)	10 weeks	3
Eimarieskandari et al. 2012 ⁴⁵	Running	25' : [4' (80-90% $\dot{V}O_2$ peak (85-95% of HRpeak)) / 3' (50-60% of $\dot{V}O_2$ peak (50-70% of HRpeak)) R]	8 weeks	3
Gillen et al. 2013 ²⁴	Cycling	10x [60s (90% HRmax)/60s]	6 weeks	3
Hornbuckle et al. 2017 ⁴⁶	Running	32': 3' (60-70% of HRmax) / 1' (80-90%) HRmax	16 weeks	3
Hutchison et al. 2011 ²⁵	Running	6 - 8x [5' (95-100%HRmax) / 2 - 1' R] + 1 session : 60' at 75-85%HRmax (70% $\dot{V}O_2$ max)	12 weeks	3

Table 2: continued

Study	Exercise modality	HIIT protocol	Duration	Frequency (/week)
Kong et al. 2016 ⁴⁷	Cycling	60x [8s / 12s] R].	5 weeks	4
Maillard et al. 2016 ¹⁵	Cycling	20': 60 x [8s (77-83% HRmax /12s active R)]	16 weeks	2
Pamissa et al. 2016 ⁴⁸	Cycling	15x [1' (90 % of HRmax) / 30s (60 % HRmax) R]	6 weeks	3
Sandstad et al. 2014 ⁴⁹	Cycling	4x [4' (85-95 % HRmax) /3' (70 % HRmax)]	10 weeks	2
Steckling et al. 2016 ⁵⁰	Running	4x [4' (90 % HRmax) /3' (70 % HRmax) R]	12 weeks	3
Trapp et al. 2008 ¹⁸	Cycling	20': 60 x (8s / 12s)	15 weeks	3
Zhang et al. 2015 ⁵¹	Running	4x [4' (85-95%) HRpeak) / 3' (50-60% HRpeak) with 7' rest between sets	12 weeks	4
Zhang et al. 2017 ⁵²	Cycling	300 kJ : 4' (90% $\dot{V}O_2$ max max) / 3' R)	12 weeks	3

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

Data expressed as: mean \pm standard deviation (SD); in instances where the results present as mean \pm standard error (SEM), SEM was converted to SD.

Abbreviations: HIIT: high-intensity interval training; HR: Heart rate; HRR: heart rate reserve; MAP: maximal aerobic power; Max: maximum; MICT: moderate-intensity continuous training; R: recovery; RPE: ratings of perceived exertion; $\dot{V}O_2$: oxygen consumption; VT: ventilatory threshold.

For Review Only

Pro/antioxidant status responses to high intensity interval training and moderate intensity continuous training in Zucker rat are tissue-specific.

Groussard C.¹, Maillard F.^{2,3}, Vazeille E.^{3,5}, Barnich N.³, Sirvent P.², Otero Y.², Combaret L.⁴
Madeuf E.⁷, Sourdrille A.², Delcros G.², Etienne M.², Teixeira A.², Sauvanet P.^{3,5}, Pialoux V.*
^{7,8}, Boisseau N.*^{2,6}

*The two authors have contributed equally to the study

1 : Université Rennes 2, M2S Laboratory, Rennes, France.

2 : Université Clermont Auvergne, Laboratoire AME2P, EA 3533, Clermont-Ferrand, France.

3 : Université Clermont Auvergne, M2iSH, UMR 1071 INSERM, UCS INRA 2018, Clermont-Ferrand, France

4 : INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), Clermont-Ferrand | Université Clermont Auvergne, France.

5 : Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, Service des maladies de l'appareil digestif, Clermont-Ferrand, France.

6 : CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

7 : Univ Lyon, Université Lyon 1, LIBM EA 7424, Villeurbanne, France.

8 : Institut Universitaire de France, Paris, France

Short title: Oxidative stress, exercise and obesity

Corresponding author

Pr Nathalie Boisseau

Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en Conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), 24 avenue des Landais, BP 26, 63171 Aubière Cedex, France.

Email: nathalie.boisseau@uca.fr

Tel number: +33 4 73 50 55 19

Abstract

Aim: To compare the effects of MICT and HIIT on pro/antioxidant status in obese rats in different tissues (adipose tissue, muscle, plasma).

Methods: Male Zucker rats (*fafa*, n = 36) aged of 8 weeks were subdivided into MICT, HIIT or control (CONT) group. Trained animals ran on a treadmill (0° slope), 5 days/week during 10 weeks (MICT group performed 51 min at 12 m.min⁻¹ and HIIT group, 6x [3 min at 10m.min⁻¹ followed by 4 min at 18 m.min⁻¹]). Epididymal and subcutaneous adipose tissues, gastrocnemius, and plasma were collected to measure markers of pro/antioxidant status (oxidative stress markers [AOPP, oxLDL], antioxidant system [FRAP, SOD, CAT, GPx], pro-oxidant enzymes [NADPHox and XO activities, MPO content]).

Results: In epididymal adipose tissue, only MICT increased GPx and SOD activities and FRAP level. In subcutaneous adipose tissue, HIIT increased AOPP level. In muscle, HIIT increased both SOD and GPx activities and reduced AOPP level compared with CONT whereas MICT only increased SOD activity without effects on oxidative stress markers (AOPP). In addition, HIIT had greater effect with higher GPX activity and lower AOPP level. Finally, both trainings were equally effective to reduce plasma MPO.

Conclusion: Both HIIT and MICT are effective to improve pro/antioxidant status. HIIT was more efficient than MICT to improve pro/antioxidant status in skeletal muscle, whereas MICT was more efficient in epididymal adipose tissue. This suggests that oxidative stress responses to HIIT and MICT are tissue-specific and could result to different pathways of ROS generation in these tissues.

Key Words: Adipose tissue, muscle, oxidant stress, training modalities, Zucker rats.

1. Introduction

With approximately 650 million people worldwide being obese in 2016 (WHO, 2016), the global epidemic of obesity becomes a major public health problem mainly due to inappropriate diet habit and a physically inactive lifestyle (Donnelly et al. 2009, Kopelman et al. 2000). In this context, physical activity appears as an effective strategy in both prevention and management of obesity (Haskell 2007).

For years, the moderate-intensity continuous training (MICT) has been the most widely popular type of exercise advised to improve body composition, cardiorespiratory fitness, insulin resistance and lipid profile (Donnelly et al. 2009, Duggan et al. 2011). However, the long-term adherence to this type of training is weak and many subjects drop out mainly for the lack of time and/or a loss of motivation and enjoyment throughout the training (Bartlett et al. 2011). Recent studies have demonstrated that a high-intensity interval training (HIIT), which consists in alternating short periods of high intensity with recovery (periods of light exercise) (Weston et al. 2014), is perceived by the subjects to be less monotonous and more enjoyable, thus significantly increasing participation and adherence (Kong et al. 2016, Gaesser and Angadi 2011). This type of training is also a time-effective alternative to the traditional MICT leading to better improvement in weight loss in particular visceral fat mass, metabolic profile and cardiorespiratory fitness in people suffering from obesity (Wisloff et al. 2007, Tjonna et al. 2008, Maillard et al. 2018).

In 2004, Furukawa et al. were the first to demonstrate in rodent or human model of obesity that fat accumulation is positively associated with systemic oxidative stress (OS), suggesting that OS is increased in obese people was likely due to an overproduction of reactive oxygen species

(ROS) from adipose tissue. In addition, ectopic fat accumulation in muscles exposed these tissues to increased ROS overproduction (Sethi & Vidal-Puig, 2007).

MICT is known to decrease OS by up-regulating antioxidant enzyme activity and by decreasing ROS production in skeletal muscle (Le Moal et al. 2017), adipose tissue (Sakurai et al. 2009) and at the vascular level (Chirico et al. 2016). MICT is also well known to decrease systemic OS, in particular in obese people (Youssef et al. 2015, Emani et al. 2016, Vincent 2005). Since accumulation of fat mass in obese increases likely OS (Furukawa et al. 2004) and knowing that HIIT leads to greater fat mass loss in particular the visceral one (Maillard et al. 2018), we hypothesised that this modality would lead to greater benefits on pro/antioxidant status than the traditional MICT in a rat model of obesity (Zucker rats). In order to verify this hypothesis, we compared the effects of 10 weeks of HIIT and MICT on pro/antioxidant status (antioxidant system, pro-oxidant enzyme and OS markers) in different targeted tissues (adipose tissue [epididymal and sub-cutaneous], muscle and plasma) in male Zucker rats.

2. Results

2.1 Characteristics of the animals

The effects of the different modalities of training on whole-body mass, total fat mass (FM:g) and fat-free mass (FFM: g) are presented in figure 2.

Whole-body mass and fat-free mass did not change in the three groups during the 10 weeks of the protocol. FM was lower in the HIIT group at W₅ and W₈ compared to CONT ($p < 0.05$). Moreover, FM was significantly lower at W₁₀ in the HIIT group than MICT ($p < 0.05$).

2.2 MICT and HIIT effects on pro/antioxidant status of *gastrocnemius* muscle

The training effects (MICT and HIIT) on pro/antioxidant status of gastrocnemius are reported in **Table 1** and **Figure 3**.

HIIT reduced significantly AOPP level in gastrocnemius compared to CONT ($10.17 \pm 0.62 \mu\text{mol.g}^{-1}$ and $13.59 \pm 1.25 \mu\text{mol.g}^{-1}$ for HIIT and CONT respectively; $p < 0.05$). Moreover, AOPP level after HIIT was significantly lower than MICT ($13.24 \pm 0.79 \mu\text{mol.g}^{-1}$; $p < 0.05$) (**Figure 3A**).

SOD activity was significantly increased by both type of training (7.13 ± 0.16 and $6.61 \pm 0.30 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$ for HIIT and MICT respectively) comparatively to CONT ($5.82 \pm 0.22 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$) with no greater effect for HIIT vs MICT (**Figure 3B**).

After 10 weeks of training, GPX activity was significantly higher in HIIT group ($3.29 \pm 0.42 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$) than in MICT ($2.14 \pm 0.14 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$) and CONT ($2.09 \pm 0.27 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$) ($p < 0.05$) (**Figure 3C**).

No training effect was reported for other measurements (**Table 1**).

2.3 MICT and HIIT effects on pro/antioxidant status of epididymal and sub-cutaneous adipose tissues

In subcutaneous adipose tissue, no training effect was observed for both MICT and HIIT on pro/antioxidant status (**Table 2**) excepted for AOPP which was significantly higher in HIIT compared with CONT ($655.50 \pm 43.81 \mu\text{mol.g}^{-1}$ and $482.40 \pm 45.31 \mu\text{mol.g}^{-1}$ in HIIT and CONT respectively; $p < 0.05$) (**Figure 4**).

In epididymal tissue, only MICT exhibited significant effects by increasing antioxidant CAT activity ($59.47 \pm 8.67 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$ and $38.31 \pm 3.32 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$ for MICT and CONT respectively; $p < 0.05$), GPx activity ($57.31 \pm 15.56 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$ and $20.52 \pm 3.69 \mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$ in MICT and CONT respectively; $p < 0.05$), and FRAP (77.79 ± 10.00 and $53.08 \pm 4.11 \mu\text{mol.g}^{-1}$ in MICT and CONT respectively; $p < 0.05$) (**Figure 5**). No training effect was reported for

other measurements (**Table 2**).

2.3 MICT and HIIT effects on systemic pro/antioxidant status

As shown in **Figure 6A**, MPO content was significantly reduced by both type of training of the same extend (975.03 ± 45.61 and 909.12 ± 49.31 pg.mL^{-1} for HIIT and MICT respectively) comparatively to CONT (1196.63 ± 64.75 pg.mL^{-1}) ($p < 0.05$).

However, only MICT significantly reduced ox-LDL level in plasma compared to CONT (74.93 ± 3.99 ng.mL^{-1} and 93.12 ± 7.36 ng.mL^{-1} for MICT and CONT respectively; $p < 0.05$). Besides, ox-LDL was significantly lower in MICT than in HIIT (74.93 ± 3.99 ng.mL^{-1} and 104.82 ± 7.92 ng.mL^{-1} for MICT and HIIT respectively; $p < 0.05$) (**Figure 6B**).

HIIT and MICT did not induce variation of plasma SOD activity (12.65 ± 1.19 and 13.71 ± 1.35 $\mu\text{mol.min.L}^{-1}$ for HIIT and MICT respectively) comparatively to CONT (13.14 ± 1.19 $\mu\text{mol.min.L}^{-1}$) (**Table 3**).

3. Discussion

This study is the first to compare two distinct modalities of exercise training (MICT vs. HIIT) on pro/antioxidant status in a context of obesity in rats. We hypothesized that HIIT, by decreasing in a larger extent total and visceral fat mass would lead to greater benefits on pro/antioxidant status than MICT. If the effects on fat mass are observed with the HIIT program, our results demonstrated that HIIT was more efficient than MICT to improve pro/antioxidant status in muscle, where ROS are mainly produced at exercise, whereas MICT was more efficient in epididymal adipose tissue.

In this study, we analysed the effects of MICT and HIIT in a model of Zucker rat (*fa/fa*). This animal model is the best known and the most widely model of genetic obesity which displays the whole biochemical and metabolic pathological outcomes of the disease (hyperinsulinemia, hyperlipidemia and insulin resistance, adipocyte hypertrophy/ hyperplasy) (Durham et al. 2006, Teixeira de Lemos et al. 2008). This model quickly develops obesity (around 4 weeks of age) resulting to hyperphagic behavior due to the mutation of the leptin receptor (*fa* gene), like in human obesity context (Phillips et al. 1996). Finally, obese Zucker rats have been shown to be good model to test the beneficial effects of therapeutic intervention programs based on physical activity (Almeida et al. 2013, 2014).

We focused our attention on pro/antioxidant status because OS has been proposed to be the unifying mechanism in the development of major obesity-related comorbidities, in particular cardiovascular disease and diabetes (Higdon et al. 2003). Several mechanisms may explain the OS increase in overweight/obese subjects like i) a decrease of antioxidant defenses; ii) an increase in mitochondrial ROS production due to excessive energy expenditure; iii) an increase in plasma lipid which are targets of oxidation, iv) an increase of leptin which may stimulate

intracellular ROS production; and v) ROS over-production by adipose tissue due to cytokine release (Vincent and Taylor 2005). In this context, the implementations of interventions that are able to protect against OS are essential to prevent obesity related complications and should be encouraged (Vincent et al. 2007). In addition, physical training is likely the only method that is known to reduce OS independently of body adiposity (Vincent et al. 2007). In our study, we demonstrated that the each training modality induced OS-tissue specific responses.

Our results regarding the adaptation of pro/antioxidant status in adipose tissue (subcutaneous and epididymal) in response to both trainings bring new knowledges to the existing literature. In epididymal tissue, only MICT induced beneficial effects by increasing GPx and SOD activities and FRAP level. By contrast and surprisingly, in sub-cutaneous adipose tissue, HIIT increased AOPP level. The literature reports that basal OS increased in the white adipose tissue of obese animals (Houstis et al. 2006, Curtis et al. 2010, Furukawa et al. 2004) due to increased expression of NADPH oxidase subunits and decrease in antioxidants enzymes (SOD and GPx) leading to higher H₂O₂ production and lipid peroxidation (Furukawa et al. 2004). Very few studies investigated pro/antioxidant status in adipose tissue in response to training, and to our knowledge, no study compared HIIT vs. MICT in a context of obesity. As others (Ko and Kim 2013, Farias et al. 2013), we evidenced an up-regulation of antioxidant enzyme activity (SOD and GPX) in epididymal tissue, in response to MICT confirming that training act as an antioxidant also in this tissue. However, unlike Krskova et al. (2012), we did not find a decrease in oxidative stress markers in response to MICT in adipose tissue. Indeed, they demonstrated that a 10-weeks aerobic training decreased the amount of protein carbonyl groups in the epididymal adipose depot. This could be explained by a higher intensity of training used in their study (20 m.min⁻¹ vs 12 m.min⁻¹ in our study) (Krskova et al. 2012). In our study, we observed some specific responses concerning visceral and sub-cutaneous adipose tissue induced by

MICT, the subcutaneous being sensitive for none of the markers. This different training-response between two adipose tissues in rat has already been reported previously by Sakurai *et al.* (2009) which showed that exercise training increased Mn-SOD activity and decreased lipid peroxidation in epididymal adipose tissue on the contrary to sub-cutaneous adipose tissue (Sakurai *et al.* 2009). The mechanisms involved for these differences still remain to be elucidated. The sensitivity of adipocytes to exercise-induced changes may be considered since catecholamine-induced lipolytic response is higher in omental adipocytes than in sub-cutaneous ones (Wajchenberg 2000). Finally, unlike muscle, in adipose tissue, MICT was more effective to improve pro/antioxidant status than HIIT. Indeed, HIIT had no favorable effects in the two adipose tissues and even increased AOPP in subcutaneous tissue suggesting that MICT and HIIT acts on different redox mechanisms with respect to the tissue specificity (muscle vs. adipose tissue).

In muscle, although both type of training up-regulated SOD activity, only HIIT increased significantly GPx activity and decreased AOPP suggesting that HIIT is more efficient than MICT in muscle, to improve pro/antioxidant status in a context of obesity. The significant reduction in AOPP in response to HIIT could be explained by the higher GPx observed for this training modality. Therefore, it is likely that in improving the muscular antioxidant defenses, in particular GPX, HIIT reduces oxidative damages in muscle. In normal-weight rat, it is observed that high intensity training increased GPX activity in muscle whereas continuous training did not (Criswell *et al.* 1993). The underlying mechanisms are not totally fully understood but may occur through exercise-induced redox-sensitive protein signaling pathways (Gomes-Cabrera *et al.* 2016) activated by higher ROS content in muscle during HIIT. Indeed, since muscular ROS production is related to exercise intensity (Powers *et al.*, 2016), during HIIT each bout of intense exercise likely induces an important increase in muscular H₂O₂ production outmatching

muscular antioxidant defense whereas during MICT the H₂O₂ content can be more easily regulated. This hypothesis is supported by the study of Combes *et al.* (2015) who demonstrated that intermittent exercise induces a greater activation of redox dependent signaling pathways than a continuous one due to a higher metabolic demand.

Concerning plasma markers of pro/antioxidant status, MICT and HIIT were both able to reduce MPO in the same extent but only MICT was able to reduce ox-LDL. The decrease of plasma MPO, a marker of neutrophil activation/degranulation and superoxide radical production (Kehrer, 1993), by both type of training, is relevant because recent studies suggest that high circulating MPO concentration could predict the apparition of coronary events (Brennan *et al.* 2003, Baldus *et al.* 2003). Our study is in agreement with others who also evidenced decreased plasma MPO level in response to continuous training in healthy animals (Barcelos *et al.* 2014, Matsumoto *et al.* 2010). To our knowledge only one study compared MICT *vs.* HIIT on this parameter but only in human and under hypoxic conditions (Weng *et al.* 2013). In this context, only HIIT was able to reduced plasma MPO. It has been shown that MPO in plasma can interact with the polyunsaturated fatty acids of lipid membranes layer, enhancing lipid peroxidation (Brennan *et al.* 2003). In our study, we also evidenced that a marker of lipid peroxidation, ox-LDL a major candidates involved in the pathogenesis of atherosclerosis (Gao *et al.* 2017), was decreased in response to training but only in response to MICT. Thus, the decrease in ox-LDL in response to MICT could contribute to reduced cardiovascular risk. In humans, the decrease of plasma ox-LDL after exercise training program is well documented either in lean (Cornelissen *et al.* 2009) or obese people (Park *et al.* 2015). When comparing high *vs.* low volume of intense exercise (90% of maximal heart rate) in healthy overweight men (BMI: 25-30), Tjonna *et al.* (2013) demonstrated that ox-LDL was reduced only in response to the high volume intense program (Tjonna 2013). This difference of response may suggest either that the

total volume of the HIIT that we chose was too low to have effects on LDLox in our model of obese rat.

In conclusion, both MICT and HIIT exert beneficial effect on pro/antioxidant status but are tissue specific. Both types of training are able to upregulate SOD activity in muscle and to reduce a major cardiovascular indicator in plasma, i.e. MPO content. As hypothesized, HIIT was more beneficial than MICT to improve pro/antioxidant status in muscle, where ROS are mainly produced during exercise. However, MICT was more effective to improve pro/antioxidant status in the epididymal adipose tissue. Thus, from a practical point of view in people suffering from obesity, if both modalities are able to improve pro/antioxidant status at different tissue levels, this meant that the recommendations would be to mix the two types of training to obtain a better whole body response to exercise.

4. Materials and methods

The experimental protocol was approved by local ethic committee (CE2A-02, Auvergne, France) and was in accordance with the current legislation on animal experimentation (guide for the care and use of laboratory animals, Eighth edition 2011).

4.1. Animals model and groups

Seventy-five adult male Zucker (*fa/fa*) rats, aged of 8 weeks, were purchased from Charles River, and were housed individually in an air-conditioned room with a controlled temperature of 21°C and a reverse 12/12 h light/dark cycle. Tap water and food (3% lipid, 16% protein, 60% carbohydrate, 5% mineral and 4% of fibers - SAFE A04, France) were available ad libitum.

After 10 days of acclimatization (including 5 days on the treadmill), 36 rats out of 75 were selected for the study after a running test. The best runners were randomly divided into a control group (CONT), a moderate intensity continuous training group (MICT) and a high intensity interval training group (HIIT) matched on weight, body fat and fasting glucose.

4.2 Experimental design

Body weight was measured weekly for all animals and the amount of food consumed was registered daily. At the end of the protocol (W_{10}) and 48h after the last exercise session, animals were killed by decapitation before tissues were harvested. Whole blood was collected and blood samples were immediately centrifuged at $2000 \times g$ for 10 min at 4°C to obtain plasma. Aliquots were stored at -80°C until analysis. Muscles (gastrocnemius), and adipose tissue (subcutaneous, epididymal) were collected, weighed and immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -

80°C until analysis.

4.3 Training protocol

One week before the experimental period, the animals were adapted to the training procedures through a low intensity running protocol as described in Figure 1. The treadmill habituation protocol finished three days before the end of the experimental period in order to avoid acute interferences on basal measurements.

Concerning the training protocol, the animals ran on a treadmill especially designed for rats (Panlab, Harvard apparatus, LE 8710R) and all sessions were performed during the dark cycle of the animals (active period). Before training sessions, all trained groups performed a regular warm-up exercise at 10 m.min⁻¹ for 5 min. The MICT group ran 51 min at 12 m/min during the 10 weeks of the protocol. The HIIT group performed training in intervals, alternating 6 sets of 3 min at 10 m/min followed by 4 min at 18 m/min during the same period of training. The protocols were originally designed to have identical total running distance between groups, as proposed by Metz et al. (2005), Kapravelou et al. (2015) and Haram et al. (2009). Animals in the control groups were managed identically to exercising animals, with the exception of training but rats were placed in the same room during the training sessions to account for potential stress that may be induced by environmental modifications.

4.4 Biochemical analysis

Tissue samples (muscle and adipose) were ground under liquid nitrogen, homogenized (10%, w/v) in PBS 1X + EDTA 0.5 mM on ice and centrifuged at 12 000 × g for 10 min at 4 °C.

Homogenate aliquots were stored at -80°C . Protein concentrations were determined using the BCA protein assays Kit (Sigma, St Louis, USA) in accordance with the manufacturer's instructions. All the products used for OS measurements came from Sigma-Aldrich and spectrophotometric measurements were performed on TECAN Infinite 2000 plate reader (Männedorf, Switzerland). Results obtained from the skeletal muscle and adipose tissues were normalized to the protein content to account for body weight variations during the experiment.

4.4.1 Markers of oxidative stress

Advanced oxidation protein products (AOPP) were determined according to the method of Vitko-Sarsat *et al.* (1996) by spectrophotometry and were calibrated with a chloramine-T solution that absorbs at 340 nm in the presence of potassium iodide. The absorbance of the reaction was read at 340 nm. AOPP concentrations were expressed as $\mu\text{mol.L}^{-1}$ of chloramine-T equivalents. The intra-assay coefficient of variation (CV) was 5.4%.

oxLDL concentration was measured in plasma using ELISA kits (Kit ELISA Elabscience®) according to manufacturers' recommendations. Absorbance was read at 450 nm.

4.4.2 Markers of antioxidant system

The plasmatic superoxide dismutase (SOD) activity was determined according to the method of Oberley and Spitz method (Oberley & Spitz, 1984) by the degree of inhibition of the reaction between superoxide radicals, produced by a hypoxanthine-xanthine oxidase system, and nitroblue tetrazolium (NTB). The formazan blue appearance subsequently formed was read at

560nm during 5 min. The intra-assay CV was 5.6%.

Plasma glutathione peroxidase (GPx) activity was determined by the modified method of Paglia & Valentine (1967). GPx activity represents the rate of NADPH elimination in NADP⁺ after addition of glutathione reductase, reduced glutathione and NADPH using hydrogen peroxide (H₂O₂) as substrate. NADPH extinction was read at 340nm during 5 min. The intra-assay CV was 4.6%.

Plasma catalase activity was determined by the method of Johansson and Borg (1988), using hydrogen peroxide (H₂O₂) as a substrate, and formaldehyde as standard. Catalase activity was determined by the formation rate of formaldehyde, read at 540 nm during 20min, induced by the reaction of methanol and H₂O₂ using catalase as enzyme. The intra-assay CV was 3.1%.

Plasma ferric-reducing antioxidant power (FRAP) was determined by spectrophotometry using the manual Benzie and Strain method (Benzie and Stain 1996). FRAP concentration was calculated using an aqueous solution of a known Fe²⁺ concentration (FeSO₄-7H₂O) as the standard. Sample was mixed with a FRAP working solution at 37°C, containing buffer acetate, 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), and ferric chloride (FeCl₃-6H₂O). The Fe²⁺-TPZT complex subsequently formed was read at 593 nm after 4 min. The intra-assay CV was 2.9%.

4.4.3 Pro-oxidant enzymes

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (NOX) and Xanthine oxidase (XO) activities were determined in plasma as previously described (Laouafa et al., 2017) by the reaction of NTB with superoxide produced by hypoxanthine or NADPH with respectively XO

and NOX of the samples. NOX and XO activities were calculated by measuring spectrophotometrically the kinetic of appearance of the complex formed by superoxide and NTB at 560 nm during 10 min.

MPO concentration was evaluated in plasma samples using a commercial ELISA kit (Myeloperoxidase DuoSet ELISA - R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Optical density was determined at 450 nm. The intra-assay CV was 2.9%.

4.4. Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). Normality was checked using Kolmogorov-Smirnov's test. Homogeneity of variance was assessed using Bartlett F test. When both conditions of normality and homogeneity of variance were respected, one-way (to analyze measures between the groups) or two-way mixed model ANOVAs with repeated measures (group, time, group x time interaction) were run and a Newman-Keuls post-hoc test was applied when ANOVA reached significance level ($p < 0.05$). All data was analyzed using Statistica software.

5. Acknowledgements

This study was supported by the "Region Auvergne-Rhône-Alpes" (PREVAMIC project) and the I-SITE project (CAP 2025) of the University of Clermont Auvergne, by Inserm (U1071), INRA (USC-2018) and by grants from the Association F. Aupetit (AFA).

6. Conflict of interest

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the author(s).

Table 1: Parameters of pro/antioxidant status in gastrocnemius after 10 weeks of protocol

	CONT	MICT	HIIT	Group effect
CAT ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	$2,37 \pm 0,15$	$2,32 \pm 0,18$	$2,23 \pm 0,12$	p=0,8
FRAP ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	$20,15 \pm 2,37$	$24,55 \pm 2,93$	$18,25 \pm 1,41$	p=0,2
NADPHox ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	$0,48 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,04$	p=0,9
XO ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	$0,29 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,02$	p=0,7

Data are presented as mean \pm SEM. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training, HIIT: high-intensity interval training; CAT: catalase; FRAP: Ferric-reducing antioxidant power; NADPHox: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; XO: Xanthine oxidase activity.

Table 2: Parameters of pro/antioxidant status in adipose tissue (AT) after 10 weeks of protocol.

	CONT	MICT	HIIT	Group effect
Sub-cutaneous AT				
CAT ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	13,84 \pm 1,42	14,25 \pm 1,17	11,15 \pm 0,78	p=0,1
FRAP ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	101,82 \pm 8,32	108,87 \pm 11,61	115,16 \pm 9,57	p=0,6
SOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	37,86 \pm 4,42	28,94 \pm 6,84	35,06 \pm 7,02	p=0,6
GPx ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	18,43 \pm 1,79	16,34 \pm 2,38	14,74 \pm 1,87	p=0,4
NADHPox ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,85 \pm 0,1	0,73 \pm 0,07	0,72 \pm 0,04	p=0,4
XO ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,18 \pm 0,16	1,03 \pm 0,12	1,02 \pm 0,15	p=0,7
Epididymal AT				
AOPP ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	172,89 \pm 13,94	182,87 \pm 19,9	132,87 \pm 15,76	p= 0,08
SOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	95,23 \pm 13,73	107,67 \pm 12,22	69,12 \pm 8,81	p=0,06
NADHPox ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,8 \pm 0,31	3,7 \pm 0,48	3,03 \pm 0,25	p=0,2
XO ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,24 \pm 0,42	2,81 \pm 0,44	1,85 \pm 0,35	p=0,3

Data are presented as mean \pm SEM. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training, HIIT: high-intensity interval training; CAT: catalase activity; FRAP: Ferric-reducing antioxidant power; SOD: superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; NADPHox: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; XO: Xanthine oxidase activity; AOPP: advanced oxidation protein product.

Table 3: Parameters of pro/antioxidant status in plasma after 10 weeks of protocol.

	CONT	MICT	HIIT	Anova
				*p < 0.05,
ox-LDL (ng.mL ⁻¹)	93,12 ± 7,36	74,93 ± 3,99 * #	104,82 ± 7,92	##p<0.01
MPO (pg.mL ⁻¹)	1196,63 ± 64,75	909,12 ± 49,31*	975,03 ± 45,61*	*p < 0.05
SOD (μmol.min. ⁻¹ g. ⁻¹)	13,14 ± 1,19	13,71 ± 1,35	12,65 ± 1,19	p=0,8

Data are presented as mean ± SEM. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training, HIIT: high-intensity interval training; ox-LDL: oxidized low density lipoprotein; MPO: myeloperoxidase; SOD: superoxide dismutase.

Figure legend

Figure 1: Experimental design. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training; W: week; D: day.

Figure 2: Effect of 10 weeks of exercise training on body composition. Total fat mass (a) and total fat free mass (b). Data are expressed as the mean \pm SEM. § $p \leq 0.05$ CONT vs. HIIT; § § $p \leq 0.01$ CONT vs. HIIT £ $p \leq 0.05$ HIIT vs. MICT and * $p \leq 0.05$.

Figure 3: Effects of 10 weeks of intervention on parameters of pro/antioxidant status ([a] AOPP level [$\mu\text{mol.g}^{-1}$], [b] SOD [$\mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$] and [c] GPx activities [$\mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$]) in the gastrocnemius. Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p < 0.05$, significantly different from CONT group; # $p < 0.05$, significantly different from MICT group. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training. AOPP: advanced oxidation protein product; SOD: superoxide dismutase; GPx: glutathione peroxidase.

Figure 4: Effects of 10 weeks of intervention on AOPP level [$\mu\text{mol.g}^{-1}$] in the sub-cutaneous tissue. Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p < 0.05$, significantly different from CONT group. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training. AOPP: advanced oxidation protein product.

Figure 5: Effects of 10 weeks of intervention on parameters of antioxidant system ([a] CAT [$\mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$] and [b] GPX [$\mu\text{mol.min.}^{-1}\text{g.}^{-1}$] activities and [c] FRAP [$\mu\text{mol.g}^{-1}$]) in the epididymal tissue. Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p < 0.05$, significantly different from CONT group. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training. CAT: catalase; GPx, glutathione peroxidase; FRAP: Ferric-reducing

antioxidant power.

Figure 6: Effects of 10 weeks of intervention on a)- MPO content [pg.mL^{-1}] and b)- ox-LDL [ng.mL^{-1}] level in plasma. Data are expressed as the mean \pm SEM. * $p < 0.05$, significantly different from CONT group. ## $p < 0.01$, significantly different from MICT group. CONT: control; MICT: moderate-intensity continuous training; HIIT: high-intensity interval training. MPO: myeloperoxidase, ox-LDL: oxidized low density lipoprotein.

Figure 1:

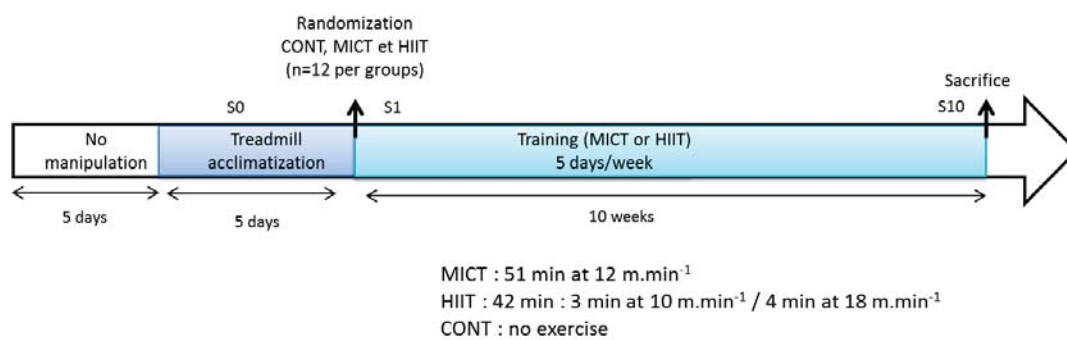


Figure 2:

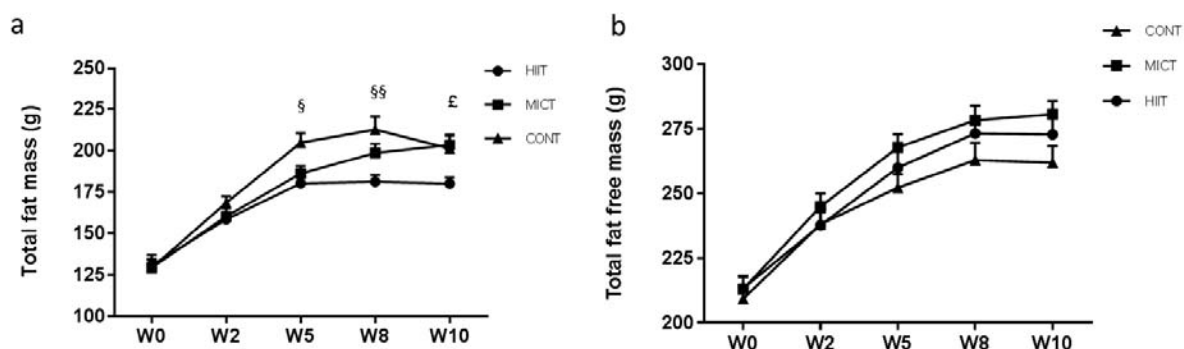


Figure 3:

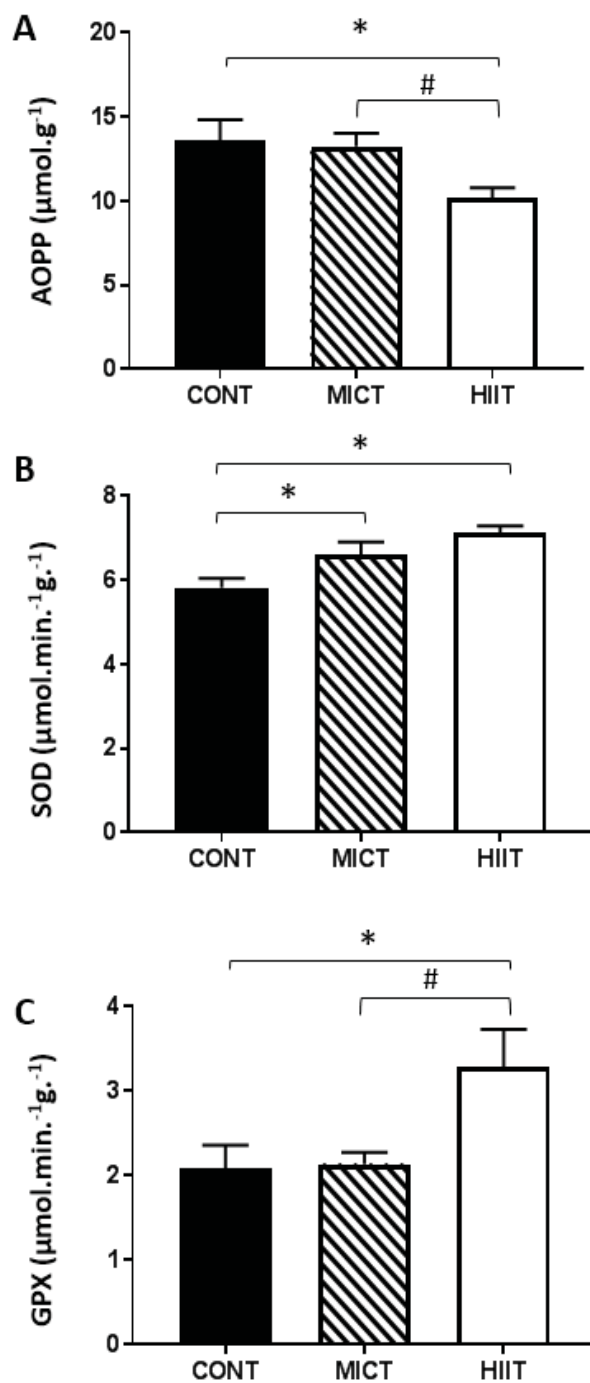


Figure 4

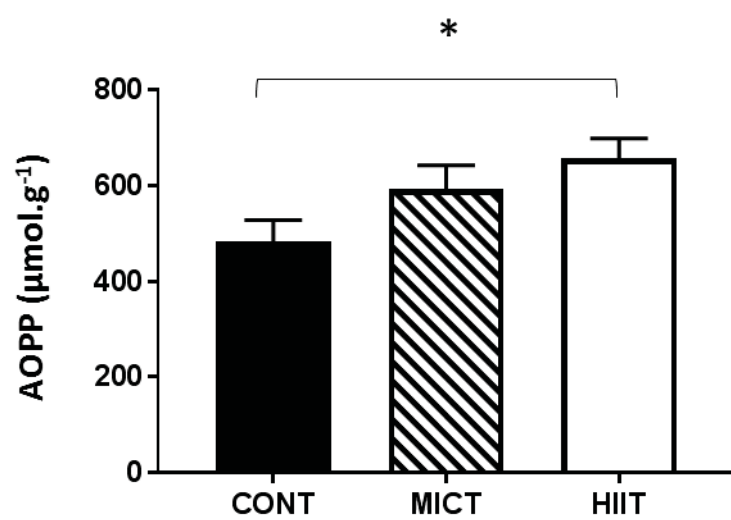


Figure 5

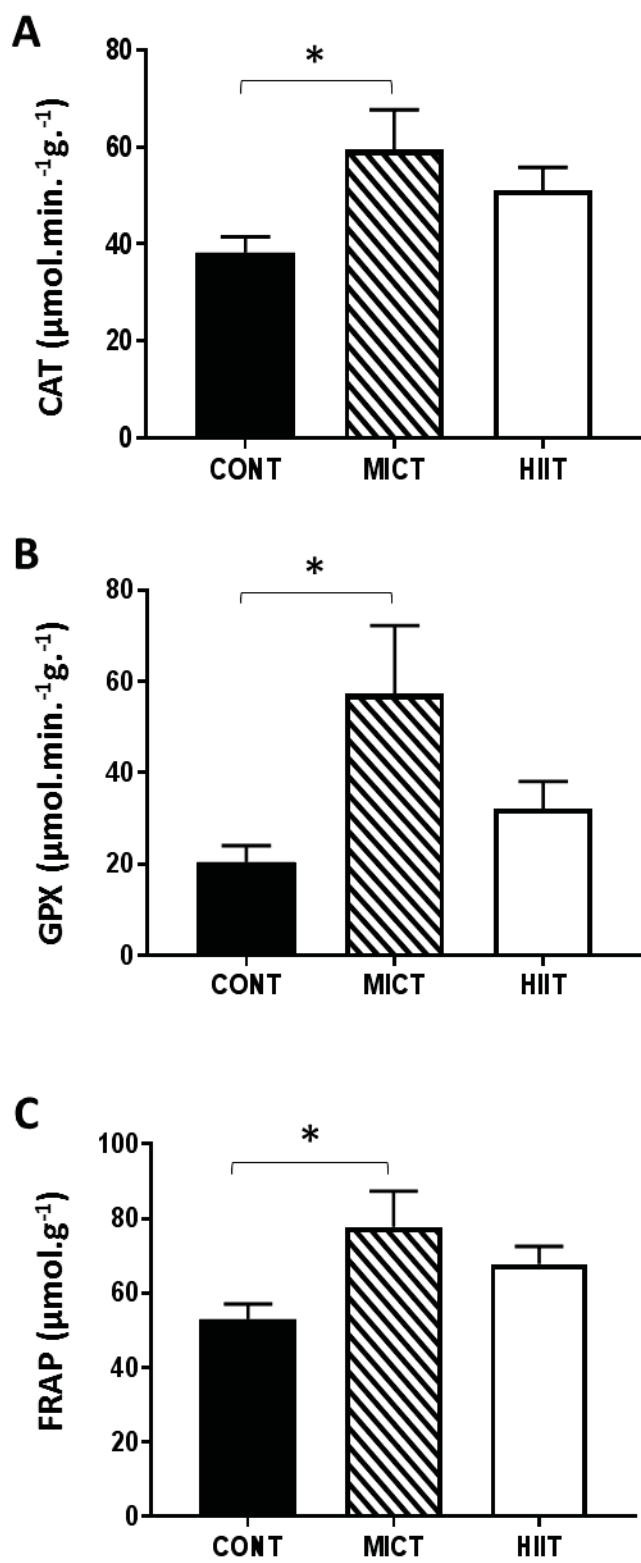
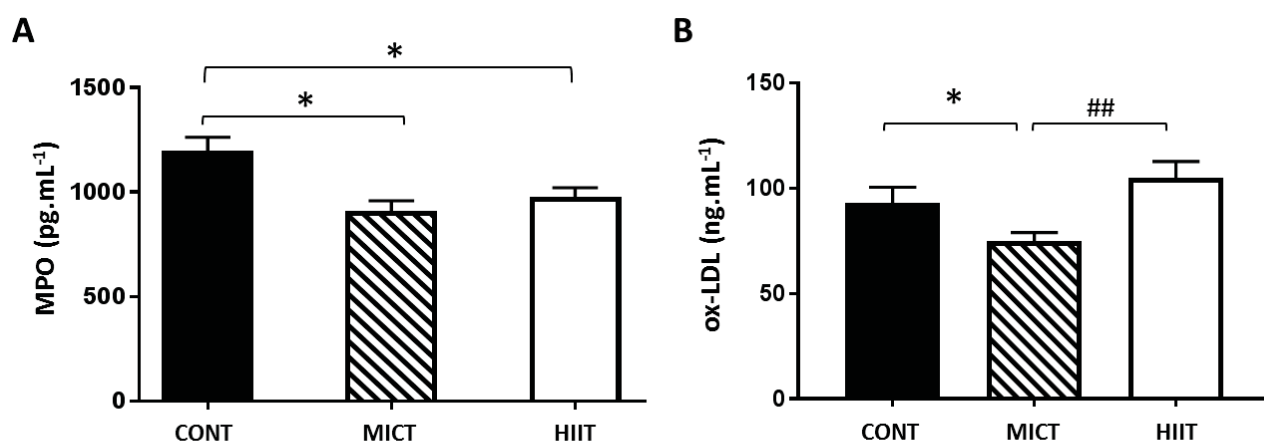


Figure 6



REFERENCES

- Almeida JA, A Petriz B, Gomes CP, Araujo RC, Pereira RW, Franco OL. Exercise training at MLSS decreases weight gain and increases aerobic capacity in obese Zuckerrats. *Int J Sports Med*. 2014 Mar;35(3):199-202. doi: 10.1055/s-0033-1349872. Epub 2013 Jul 30.
- American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009 Feb;41(2):459-71. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181949333. Erratum in: *Med Sci Sports Exerc*. 2009 Jul;41(7):1532.
- Barcelos RP, Souza MA, Amaral GP, Stefanello ST, Bresciani G, Figuera MR, Soares FA, de Vargas Barbosa N. Caffeine intake may modulate inflammation markers in trained rats. *Nutrients*. 2014 Apr 21;6(4):1678-90..
- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996 Jul 15;239(1):70-6.
- Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, Goormastic M, Pepoy ML, McErlean ES, Topol EJ, Nissen SE, Hazen SL. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med*. 2003 Oct 23;349(17):1595-604.
- Chirico EN, Faës C, Connes P, Canet-Soulas E, Martin C, Pialoux V. Role of Exercise-Induced Oxidative Stress in Sickle Cell Trait and Disease. *Sports Med*. 2016 May;46(5):629-39.
- Cornelissen VA, Arnout J, Holvoet P, Fagard RH. Influence of exercise at lower and higher intensity on blood pressure and cardiovascular risk factors at older age. *J Hypertens*. 2009 Apr;27(4):753-62.
- Criswell D, Powers S, Dodd S, Lawler J, Edwards W, Renshler K, Grinton S. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med Sci Sports Exerc*. 1993 Oct;25(10):1135-40.
- de Farias JM, Bom KF, Tromm CB, Luciano TF, Marques SO, Tuon T, Silva LA, Lira FS, de Souza CT, Pinho RA. Effect of physical training on the adipose tissue of diet-induced obesity mice: interaction between reactive oxygen species and lipolysis. *Endocr Regul*. 2012 Jul;46(3):137-46.
- Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, et al. (2009) American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 41(2): 459-471.
- Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK; American College of Sports Medicine.
- Durham HA, Truett GE: Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006, 290:R652–R658.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec;114(12):1752-61.
- Gaesser GA, Angadi SS. High-intensity interval training for health and fitness: can less be more? *J Appl Physiol* (1985). 2011 Dec;111(6):1540-1.
- Gao S, Liu J. Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and atherosclerotic cardiovascular disease. *Chronic Dis Transl Med*. 2017 May 25;3(2):89-94. doi: 10.1016/j.cdtm.2017.02.008. eCollection 2017 Jun 25.
- Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, et al. (2007). Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 39(8): 1423-1434.

Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 365–367.

J Physiol. 2016 Sep 15; 594(18): 5081–5092.

J. Ko and K. Kim, “Effects of exercise and diet composition on expression of MCP-1 and oxidative stress-related mRNA of adipose tissue in diet-induced obese mice,” *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*, vol. 17, no. 4, pp. 181–188, 2013.

J. M. Curtis, P. A. Grimsrud, W. S. Wright et al., “Downregulation of adipose glutathione S-transferase A4 leads to increased protein carbonylation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction,” *Diabetes*, vol. 59, no. 5, pp. 1132–1142, 2010.

Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem*. 1988 Oct;174(1):331-6.

Kehrer J: Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol*. 1993, 23: 21-48.

Kong Z, Fan X, Sun S, Song L, Shi Q, Nie J. Comparison of High-Intensity Interval Training and Moderate-to-Vigorous Continuous Training for Cardiometabolic Health and Exercise Enjoyment in Obese Young Women: A Randomized Controlled Trial. *PLoS One*. 2016 Jul 1;11(7):e0158589.

Kopelman PG (2000). Obesity as a medical problem. *Nature* 404(6778): 635-643.

Krskova K¹, Eckertova M, Kukan M, Kuba D, Kebis A, Olszanecki R, Suski M, Gajdosechova L, Zorad S. Aerobic training lasting for 10 weeks elevates the adipose tissue FABP4, $G\alpha$, and adiponectin expression associated by a reduced protein oxidation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb 6;379(2):605-9.

Laouafa S, Ribon-Demars A, Marcouiller F, Roussel D, Bairam A, Pialoux V, Joseph V. Estradiol Protects Against Cardiorespiratory Dysfunctions and Oxidative Stress in Intermittent Hypoxia. *Sleep*. 2017 Aug 1;40(8).

Le Moal E, Pialoux V, Juban G, Groussard C, Zouhal H, Chazaud B, Mounier R. Redox Control of Skeletal Muscle Regeneration. *Antioxid Redox Signal*. 2017 Aug 10;27(5):276-310.

Matsumoto Y, Adams V, Jacob S, Mangner N, Schuler G, Linke A. Regular exercise training prevents aortic valve disease in low-density lipoprotein-receptor-deficient mice. *Circulation*. 2010 Feb 16;121(6):759-67. doi:

N. Houstis, E. D. Rosen, and E. S. Lander, “Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance,” *Nature*, vol. 440, no. 7086, pp. 944–948, 2006.

Oberley LW, Spitz DR. Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Methods Enzymol*. 1984;105:457-64.

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967 Jul;70(1):158-69.

Park JH, Park H, Lim ST, Park JK. Effects of a 12-week healthy-life exercise program on oxidized low-density lipoproteincholesterol and carotid intima-media thickness in obese elderly women. *J Phys Ther Sci*. 2015 May;27(5):1435-9. doi: 10.1589/jpts.27.1435. Epub 2015 May 26.

Phillips MS, Liu Q, Hammond HA, Dugan V, Hey PJ, Caskey CJ, et al. Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nat Genet* 1996; 13: 18–9.

Sakurai T1, Izawa T, Kizaki T, Ogasawara JE, Shirato K, Imaizumi K, Takahashi K, Ishida H, Ohno H. Exercise training decreases expression of inflammation-related adipokines through reduction of oxidative stress in rat white adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb 6;379(2):605-9.

Sakurai T, Izawa T, Kizaki T, Ogasawara JE, Shirato K, Imaizumi K, Takahashi K, Ishida H, Ohno H. Exercise training decreases expression of inflammation-related adipokines through reduction of oxidative stress in rat white adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009

Scott K. Powers, Zsolt Radak, and Li Li Ji · Exercise - induced oxidative stress: past, present and future

Sethi JK, Vidal-Puig AJ. Targeting fat to prevent diabetes. *Cell Metab*. 2007 May;5(5):323-5.

Tjønnå AE, Leinan IM, Bartnes AT, Jenssen BM, Gibala MJ, Winett RA, Wisløff U. Low- and high-volume of intensive endurance training significantly improves maximal oxygen uptake after 10-weeks of training in healthy men. *PLoS One*. 2013 May 29;8(5):e65382.

Viña J, Gomez-Cabrera MC, Jackson M. Special Issue "Human performance and redox signaling in health and disease". *Free Radic Biol Med*. 2016 Sep;98:1. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.003. Epub 2016 Jun 6.

Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab*. 2007 Nov;9(6):813-39. Review.

Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Mar;30(3):400-18. Review.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome, *Endocr. Rev*. 21 (2000) 697–738.

Weng TP, Huang SC, Chuang YF, Wang JS. Effects of interval and continuous exercise training on CD4 lymphocyte apoptotic and autophagic responses to hypoxic stress in sedentary men. *PLoS One*. 2013 Nov 13;8(11):e80248.

Witko-Sarsat V¹, 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 May;49(5):1304-13.

Youssef H, Groussard C, Lemoine-Morel S, Pincemail J, Jacob C, Moussa E, Fazah A, Cillard J, Pineau JC, Delamarche A. Aerobic training suppresses exercise-induced lipid peroxidation and inflammation in overweight/obese adolescent girls. *Pediatr Exerc Sci*. 2015 Feb;27(1):67-76