



**HAL**  
open science

# Rôle de PPAR $\alpha$ et de PIEZO1 dans le métabolisme des adipocytes thermogéniques

Pierre-Louis Batrow

► **To cite this version:**

Pierre-Louis Batrow. Rôle de PPAR $\alpha$  et de PIEZO1 dans le métabolisme des adipocytes thermogéniques. Biologie cellulaire. Université Côte d'Azur, 2024. Français. NNT : 2024COAZ6014 . tel-04887735

**HAL Id: tel-04887735**

**<https://theses.hal.science/tel-04887735v1>**

Submitted on 15 Jan 2025

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

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

# THÈSE DE DOCTORAT

## Rôle de PPAR $\alpha$ et de PIEZO1 dans le métabolisme des adipocytes thermogéniques

**Pierre-Louis BATROW**

Institut de Biologie Valrose

**Présentée en vue de l'obtention**

**du grade de docteur en** Sciences de la vie et de la Santé

d'Université Côte d'Azur

**Dirigée par :** Dr Ez-Zoubir AMRI

**Soutenue le :** 20 septembre 2024

**Devant le jury, composé de :**

Pr. Isabelle LAURELL (Présidente et Rapportrice)  
RESTORE - METABOLINK

Dr. Jean-François LANDRIER (Rapporteur) Centre  
de recherche en CardioVasculaire et Nutrition

Dr. Stoyan IVANOV (Examinateur)

Laboratoire de PhysiMédecine Moléculaire

Dr Ez-Zoubir AMRI (Directeur de thèse)

Institut de Biologie Valrose



# **Rôle de PPAR $\alpha$ et de PIEZO1 dans le métabolisme des adipocytes thermogéniques**

Jury :

**Présidente du jury :**

Pr. Isabelle Laurell, Professeure  
RESTORE – METABOLINK, Université Toulouse III - Paul Sabatier

**Rapporteurs :**

Pr. Isabelle Laurell, Professeure  
RESTORE – METABOLINK, Université Toulouse III - Paul Sabatier

Dr. Jean-François LANDRIER, Directeur de Recherche  
Centre de recherche en CardioVasculaire et Nutrition, Aix-Marseille Université

**Examineur :**

Dr. Stoyan IVANOV  
Laboratoire de PhysioMédecine Moléculaire, Université Côte d'Azur

**Directeur de thèse :**

Dr Ez-Zoubir AMRI, Directeur de Recherche  
Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur

## Rôle de PPAR $\alpha$ et de PIEZO1 dans le métabolisme des adipocytes thermogéniques

### Résumé

Le tissu adipeux (TA) est un organe hétérogène, plastique et divisé en deux types de dépôts. Le TA blanc stocke/mobilise les lipides en fonction des besoins et le TA brun produit de la chaleur grâce à l'expression de la protéine découplante UCP1. L'obésité perturbe profondément le fonctionnement des dépôts blancs et bruns. Elle impacte la qualité de vie et est associée à de nombreuses comorbidités telles que le diabète ou les maladies cardiovasculaires. Il subsiste des effets indésirables ainsi que des patients qui ne répondent pas aux stratégies utilisées actuellement comme les analogues du GLP-1 ou la chirurgie bariatrique. Chez l'homme, la présence de TA brun métaboliquement actif est inversement corrélée à l'obésité. Ainsi, l'identification de facteurs impliqués dans l'activation du TA thermogénique ouvre la voie à de nouvelles stratégies de prise en charge de l'obésité. Il est également nécessaire d'améliorer les connaissances sur les mécanosenseurs capables de détecter le remodelage du TA.

Le facteur de transcription PPAR $\gamma$  est essentiel à l'adipogenèse et la thermogenèse. Son activation pharmacologique améliore la sensibilité à l'insuline et induit la conversion d'adipocytes blanc en adipocytes thermogéniques. L'utilisation clinique de ces agonistes a cependant été stoppée en raison de graves effets indésirables. PPAR $\alpha$  est également fortement exprimé dans le TA brun. Son expression augmente dans le TA blanc en réponse à des stimulations thermogéniques comme l'exposition au froid. Dans un premier temps, j'ai montré, *in vitro* dans les cellules hMADS (adipocytes humains dérivés des cellules souches mésenchymateuses), que PPAR $\alpha$  était un frein à la conversion thermogénique induite par PPAR $\gamma$ . De plus, nous avons étudié, dans un contexte adipocytaire, le pémafibrate. Cette molécule est déjà utilisée comme hypolipidémiant via son activation de PPAR $\alpha$  au niveau hépatique. Dans les adipocytes hMADS, le pémafibrate active préférentiellement PPAR $\gamma$  pour induire l'adipogenèse et l'expression de marqueurs thermogéniques comme UCP1 et CPT1M. Aussi, j'ai mis en évidence un nouveau rôle pour PPAR $\alpha$  *in vivo* chez la souris. Sa délétion dans le TA brun de souris nourries en régime riche en graisse et traitées avec un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques induit la Lipogenèse De Novo. L'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun contribue donc à son blanchiment. Cette synthèse lipidique accrue est associée à l'augmentation de l'expression de ChREBP $\beta$  et de ces gènes cibles comme ACLY, ACC1, FASN et SCD1, et des niveaux d'AKT2. En conséquence, le profil lipidique des triglycérides et des phospholipides est altéré avec une augmentation des proportions d'acide palmitoléique.

Mes résultats affinent le rôle de PPAR $\alpha$  dans le TA thermogénique, au-delà de la thermogenèse. Dans le TA brun, PPAR $\alpha$  est un senseur lipidique contrôlant la Lipogenèse De Novo, donc essentiel à l'homéostasie glucido-lipidique. Nous avons également affiné les connaissances sur le pémafibrate en le repositionnant comme étant un double agoniste de PPAR $\alpha/\gamma$ . Enfin, des données préliminaires indiquent que l'expression de PIEZO1, un canal mécanosenseur fortement exprimé dans le TA brun, augmente avec les variations de volume des adipocytes.

Mots-clés : Adipocytes, PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , pémafibrate, thermogenèse, lipogenèse de novo.

## Role of PPAR $\alpha$ and PIEZO1 in the metabolism of thermogenic adipocytes

### Abstract

Adipose tissue (AT) is a highly heterogeneous and plastic organ. It is divided into two depots: white AT, which stores and mobilizes lipids depending on the need, and brown AT, which is capable of producing heat thanks to the expression of the uncoupling protein UCP1. Obesity severely disrupts the functioning of both white and brown ATs. This pathology is a global public health problem. It affects quality of life and is associated with numerous comorbidities such as diabetes and cardiovascular disease. There are side effects and patients who do not respond to current strategies such as GLP-1 analogues or bariatric surgery. In humans, the presence of metabolically active thermogenic AT is negatively correlated with obesity. Thus, the identification of factors involved in the activation of thermogenic AT opens the way to new strategies for the treatment of obesity. Proteins involved in the AT remodeling remain poorly understood.

The transcription factor PPAR $\gamma$  is essential for adipogenesis and the activation of thermogenic AT. Its pharmacological activation increases insulin sensitivity and induces the conversion of white adipocytes into thermogenic adipocytes. However, the clinical use of these agonists has been discontinued due to serious adverse effects. PPAR $\alpha$  is also highly expressed in brown AT and its expression increases in white AT in response to thermogenic stimuli such as cold exposure. However, the role of PPAR $\alpha$  and its activation remain unclear, especially in humans. In a first study, I demonstrated, *in vitro* in hMADS adipocytes (human Multipotent Adipose-tissue Derived Stem cells), that PPAR $\alpha$  acts as a hindrance on PPAR $\gamma$ -induced thermogenic conversion. Furthermore, we investigated the effect of pemafibrate in adipocyte context. This molecule is already used as a lipid-lowering agent via its activation of PPAR $\alpha$  at the hepatic level. In hMADS adipocytes, pemafibrate preferentially activates PPAR $\gamma$  to induce adipogenesis and the expression of thermogenic markers such as UCP1 and CPT1M. Pemafibrate is therefore a dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonist. Secondly, my work highlighted a new role for PPAR $\alpha$  *in vivo* in mice. The deletion of PPAR $\alpha$  in the brown AT of mice fed a high-fat diet and treated with a  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist induces de novo lipogenesis. The absence of PPAR $\alpha$  in brown AT contributes to its whitening. This increased lipid synthesis is associated with increased expression of ChREBP $\beta$  and its target genes, including ACLY, ACC1, FASN and SCD1, as well as AKT2 levels. Consequently, the lipid profile of triglycerides and phospholipids is altered, with increased proportions of palmitoleic acid.

Altogether, these results contribute to a more comprehensive understanding of the role of PPAR $\alpha$  in thermogenic AT, beyond UCP1-dependent thermogenesis. In brown AT, PPAR $\alpha$  acts as a lipid sensor, regulating de novo lipogenesis, which is essential for maintaining carbohydrate and lipid homeostasis. Moreover, my findings refine the current knowledge about pemafibrate, which could be repositioned as a dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonist. Furthermore, preliminary data indicate that Piezo1, a mechanosensor highly expressed in AT, is induced with the variations of adipocytes volume.

Key words: adipocytes, PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , pemafibrate, thermogenesis, de novo lipogenesis.

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>4</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>5</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>10</b>
<b>Liste des publications</b> .....	<b>12</b>
<b>Liste des communications</b> .....	<b>13</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>14</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>18</b>
<b>A) L'obésité</b> .....	<b>20</b>
<b>Définition et diagnostic</b> .....	<b>20</b>
<b>Prévalence et historique</b> .....	<b>22</b>
En France .....	22
La pandémie d'obésité .....	22
<b>Etiologie de l'obésité</b> .....	<b>25</b>
Notions de balance énergétique .....	25
<b>Facteurs génétiques et obésité</b> .....	<b>27</b>
Obésités monogéniques.....	28
Les polymorphismes.....	29
Epigénétique.....	29
<b>Comorbidités et conséquences socio-économique de l'obésité</b> .....	<b>30</b>
Les pathologies associées à l'obésité .....	30
Obésité, atteintes hépatiques et cancers.....	31
Impact de l'obésité sur la qualité de vie .....	32
Surmortalité .....	33
Impact économique global de l'obésité et du surpoids .....	34
<b>Traitements de l'obésité</b> .....	<b>35</b>
Mesures hygiéno-diététiques.....	35
Les chirurgies bariatriques .....	36
Traitements pharmacologiques .....	36
<b>L'organe adipeux et sa diversité</b> .....	<b>39</b>
<b>B) Le tissu adipeux blanc</b> .....	<b>39</b>
<b>Distribution anatomique du tissu adipeux blanc</b> .....	<b>39</b>
<b>Composition cellulaire du TA blanc</b> .....	<b>42</b>
La fraction stroma-vasculaire .....	42
Les progéniteurs adipocytaires .....	43
Les cellules endothéliales .....	44

Les cellules immunitaires .....	45
<b>L'adipocyte blanc mature .....</b>	<b>47</b>
<b>L'adipogenèse blanche .....</b>	<b>48</b>
BMP .....	48
ZFP423 .....	48
<b>PPAR<math>\gamma</math> .....</b>	<b>49</b>
C/EBP .....	54
Insuline et glucocorticoïdes.....	54
<b>Le rôle des autres PPARs dans le TA blanc .....</b>	<b>56</b>
PPAR $\alpha$ .....	56
PPAR $\beta/\delta$ .....	57
<b>Les fonctions de l'adipocyte blanc.....</b>	<b>57</b>
Passage de acides gras plasmatique vers l'adipocyte .....	58
Synthèse des triglycérides.....	59
La lipogenèse de novo .....	59
Régulation de la lipogenèse de novo .....	61
Lipolyse.....	62
Régulation de la lipolyse.....	63
<b>Fonction sécrétoire .....</b>	<b>66</b>
Leptine et adiponectines.....	66
Cytokines .....	67
Lipokines.....	68
<b>C) Le tissu adipeux thermogénique .....</b>	<b>70</b>
<b>Historique .....</b>	<b>70</b>
<b>Présence de TA brun actif chez l'adulte .....</b>	<b>71</b>
<b>L'adipocyte brun .....</b>	<b>72</b>
<b>Innervation et vascularisation.....</b>	<b>73</b>
<b>L'adipocyte beige .....</b>	<b>74</b>
Transdifférenciation et différenciation de novo .....	75
<b>Origine des adipocytes bruns.....</b>	<b>76</b>
<b>Différenciation des adipocytes thermogéniques.....</b>	<b>77</b>
EBF2.....	77
PRDM16.....	77
PGC1 $\alpha$ et RIP140 .....	77
PPAR $\gamma$ .....	78
<b>Les cellules hMADS.....</b>	<b>80</b>



Origine et description des cellules .....	80
Différenciation des cellules hMADS en adipocytes mature .....	80
Différenciation des cellules hMADS en adipocytes thermogéniques et conversion .....	81
Avantages et inconvénients des cellules hMADS.....	83
<b>Thermogenèse .....</b>	<b>83</b>
<b>Découplage de la respiration mitochondriale .....</b>	<b>84</b>
<b>La protéine découplante UCP1.....</b>	<b>85</b>
Structure de la protéine UCP1.....	86
Activation d'UCP1.....	87
Les homologues d'UCP1 .....	88
<b>Régulation transcriptionnelle d'Ucp1 .....</b>	<b>89</b>
<b>Le rôle de PPAR<math>\alpha</math> dans l'activation du TA thermogénique .....</b>	<b>93</b>
Données reposant sur des modèles de délétion de PPAR $\alpha$ .....	93
Données reposant sur l'activation pharmacologique de PPAR $\alpha$ .....	95
<b>D) Métabolisme du tissu adipeux brun.....</b>	<b>97</b>
<b>Métabolisme des lipides.....</b>	<b>97</b>
$\beta$ -oxydation des AG .....	99
<b>Métabolisme du glucose.....</b>	<b>102</b>
<b>Utilisation d'autres substrats .....</b>	<b>105</b>
<b>Thermogenèse UCP1 indépendante .....</b>	<b>107</b>
Calcium .....	108
Créatinine .....	108
Réestérification des AG .....	109
<b>Le tissu adipeux brun est aussi un organe sécrétoire .....</b>	<b>111</b>
FGF21.....	111
Interleukine 6 .....	111
Bone Morphogenetic Proteins .....	112
NRG4.....	112
<b>Sécrétions lipidiques .....</b>	<b>113</b>
Les prostaglandines.....	113
12-13 diHOME .....	114
12-HEPE .....	114
Résolvines.....	114
<b>E) Plasticité de l'organe adipeux et mécanosensibilité .....</b>	<b>115</b>
Matrice extra-cellulaire et rigidité .....	115
Volume adipocytaire et sensibilité à l'insuline.....	117

<b>Mécanotransduction et adipogenèse .....</b>	<b>117</b>
<b>Mécanotransduction et canaux ioniques .....</b>	<b>120</b>
TRPV .....	120
Piezo1 .....	121
<b>Objectifs de la thèse .....</b>	<b>123</b>
<b>Résultats in vitro .....</b>	<b>125</b>
Introduction de l'étude in vitro .....	126
Discussion de l'article in vitro.....	162
<b>Résultats in vivo chez la souris .....</b>	<b>166</b>
Introduction de l'article in vivo .....	167
Discussion de l'article in vivo.....	204
<b>Résultats complémentaires .....</b>	<b>211</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>220</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>224</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>276</b>
Annexe 1 : Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale.....	276
Annexe 2 : . The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocyte.....	276
Annexe 3 : Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2.....	276
Annexe 1 : Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale.....	277
Annexe 2 : . The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocytes .....	278
Annexe 3 : Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2.....	279

## Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette thèse, de près ou de loin.

En tout premier lieu, je tiens à remercier profondément mon directeur de thèse, Zoubir. Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir accueilli dans ton équipe pour m'épanouir dans le monde du tissu adipeux brun. J'apprécie ta disponibilité, ta confiance et ton soutien, tout en me laissant une grande liberté. Toujours disponible pour discuter dans ton bureau, surtout le soir. Merci de toujours faire le maximum pour les jeunes, de m'avoir donné l'opportunité de présenter mes travaux dans des congrès y compris à l'étranger. Merci tout particulier pour les amandes, les dattes et fruits partagés, j'avais parfois l'impression qu'on était les seuls à apprécier les fruits atypiques. C'était tout simple mais trouver des nèfles ou des figues de barbaries sur mon bureau après une longue journée au labo me donnait le sourire.

Je souhaite remercier les membres du jury. Merci à Isabelle Castan-Laurell de présider le jury. Merci encore à Isabelle Castan-Laurell et Jean-François Landrier, rapporteurs au sien du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail dans le but de l'améliorer ainsi que Stoyan Ivanov, examinateur lors de ma soutenance. Je remercie aussi Marthe Moldes et Nathalie Billon pour m'avoir accompagné dans mon comité de suivi de thèse.

Un grand merci à tous les membres de mon équipe avec qui j'ai pris plaisir à travailler. Un immense merci à Nadine, pilier de l'équipe, de l'étage et parfois même de la tour. Du haut de la tour Pasteur qui tient le coup malgré tout et nous offre de beaux panoramas. Vue sur les petites collines côté labo, vue sur mer côté bureau. Il y a pire. Nadine, merci pour ton enthousiasme, ton dynamisme. Au top pour gêner le labo, toujours prête à rendre service. Comment parler de Nadine sans Nathalie. Merci pour ta douceur et ton calme. Souvent bloquée en salle de réunion mais toujours disponible.

Merci à Cécilia pour m'avoir aidé à prendre mes marques au labo, initié à la culture des cellules hMADS. Grâce à toi, j'ai pu voir les challenges d'une fin de thèse à gérer au milieu de la rédaction et des enseignements. Et pourtant, je n'ai pas su gérer efficacement mon temps et j'ai, moi aussi, eu l'immense plaisir d'écrire ce manuscrit tout en finissant quelques expériences et tout ça au milieu de l'enseignement. Laura, tu sais ce qu'il te reste à faire ou ne pas faire. Laura, merci à toi pour ta bonne humeur malgré les manips qui ne fonctionnent pas toujours. On n'a pas exactement le même rythme de vie, surtout pour l'heure des repas. Merci quand même de souvent poser la question « Qui a faim ? », sinon je mangerais très souvent après 14h.

Merci à Isabelle, Brigitte, et Anne-Sophie qui ont rejoint l'équipe. Le monde est petit. J'aurais pu débarquer à Nice chez vous au C3M. Finalement, vous n'avez rejoint à l'iBV. Merci tout particulier à Isabelle pour ton aide à la fin de ma thèse. Tu as bien intégré le projet HepadAdialogue sur sa fin et je t'en suis reconnaissant. Merci à Anne-Sophie pour m'avoir donné la belle opportunité d'enseigner en STAPS. Ce fût super enrichissant. Merci à Brigitte pour avoir

essayé d'obtenir quelques informations sur le poste d'ATER dans cette période plutôt bizarre et stressante pour moi.

J'aime manger tard à l'heure espagnole. Je salue à cette occasion Ester et Sandra. Ester, merci pour ta douceur et ta gentillesse. Ton séjour au labo fut court mais vraiment plaisant. On a tout de même partagé une soirée sympa chez Zoubir. Sandra, que je ne croisais au départ que lorsque je passais du labo au bureau puis tu as fini par intégrer le bureau des jeunes. Merci pour ta bienveillance et ta curiosité sur notre travail. Merci aussi aux autres soldats du bureau des jeunes. Merci Hassan pour ton humour, merci Julien pour ton enthousiasme et ton regard parfois si peu scientifique.

Merci également à toutes les personnes du 11<sup>ème</sup> que j'ai croisées. Nicole, Kay, Vincent, Christian, Xi, Annie, Pascal, Solène, Clémence, Floricia, Sana, Enora. Un salut particulier à Phi qui aime beaucoup discuter et divaguer sur tout et rien.

Je salue aussi les collaborateurs de la tour. Etienne Boulter pour les Lego avec lesquels j'aurais aimé jouer encore un peu plus. Les doctorants et chercheurs du 3<sup>ème</sup> ou l'intérêt du tissu adipeux brun se répand. Merci également à Samah et Agnes pour votre expertise, votre disponibilité et votre sympathie.

Merci aussi aux collaborateurs niçois et toulousains. Ce fut un réel plaisir d'en voir un certain nombre directement dans la ville rose. Merci tout particulier pour Dominique Langin et Sylvie Caspar-Bauguil pour l'aide précieuse sur les données de lipidomiques, avec lesquelles nous étions parfois perdus.

Merci aux doctorants de l'iBV et des autres instituts avec lesquels j'ai pu discuter. Pas toujours facile de nous faire descendre du haut de notre Pasteur pour aller au PhD Club à Valrose. Merci notamment à Nicolas, Niels et Brice. Je suis sympa, je n'ai finalement pas tant discuté de Piezo1 pour te laisser des choses à dire dans ta thèse.

Merci à Thomas Simon et Philippe Blancou pour votre confiance, vos conseils et votre aide pour l'enseignement. J'ai pris beaucoup de plaisir devant les étudiants, surtout en amphitheâtre et en TP. Cette expérience d'ATER aurait-elle susciter une vocation ? Merci aussi à Julie pour ton aide lors des TPs et à Béatrice, pour toute l'organisation.

A mes amis de Prépa, avec la distance et les choix de vie de chacun, difficile de se voir mais vous êtes les meilleurs ! J'aurais aimé partager des figues de Barbarie avec vous. Certains d'entre vous avaient oublié l'existence du tissu adipeux, moi non ...

Je remercie de tout mon cœur ma famille pour votre soutien et vos encouragements constants. Pas toujours facile d'être le scientifique de la famille, et d'expliquer mon travail mais je pense que j'ai tout de même réussi à titiller votre curiosité. Je vous aime.

Enfin, je souhaite remercier toutes les personnes qui prendront le temps de lire ce manuscrit.

## Liste des publications

**Batrow PL**, Mothe-Satney I, Amri EZ. Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale [Thermoneutrality and animal study]. *Med Sci (Paris)*. 2023 Dec;39(12):937-944. French. doi: 10.1051/medsci/2023176. Epub 2023 Dec 18. PMID: 38108724.

Colson C, **Batrow PL**, Dieckmann S, Contu L, Roux CH, Balas L, Vigor C, Fourmaux B, Gautier N, Rochet N, Bernoud-Hubac N, Durand T, Langin D, Klingenspor M, Amri EZ. Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2. *Cells*. 2023 Jan 30;12(3):446. doi: 10.3390/cells12030446. PMID: 36766790; PMCID: PMC9913700.

Colson C, **Batrow PL**, Gautier N, Rochet N, Ailhaud G, Peiretti F, Amri EZ. The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocytes. *Cells*. 2020 Nov 7;9(11):2433. doi: 10.3390/cells9112433. PMID: 33171828; PMCID: PMC7695189.

**Batrow PL**, Roux C H, Gautier N, Martin L, Sibille L, Guillou H, Postic C, Langin D, Mothe-Satney I and Amri EZ. Regulation of UCP1 expression by PPAR $\alpha$  and pemafibrate in human adipocytes, en cours de soumission à *Molecular Metabolism*.

**Batrow PL**, Caspar-Bauguil S, Gautier N, Rochet N, Rousseau AS, Maret M, Rekima S, Van Obberghen E, Roux C, Guillou H, Postic C, Wolfrum C, Langin D, Amri EZ and Mothe-Satney I. Deletion of PPAR $\alpha$  in mouse brown adipocytes increases De Novo Lipogenesis in brown adipose tissue, en cours de soumission à *Cell Reports*

## Liste des communications

### Communications orales :

- 30th European Congress on Obesity, Dublin, 17-20 mai 2023.

Effect of PPAR $\alpha$  deletion specifically in brown adipocytes on adipocytes biology.

**Batrow PL**, Gautier N, Rochet N, Rekima S, Maret M, Mothe-Satney I and Amri EZ

- 39èmes journées scientifiques de l'Association Française d'Étude et de Recherche sur l'Obésité, Paris, 12-13 janvier 2023.

Effet de la délétion de PPAR $\alpha$  dans les adipocytes bruns sur la biologie des adipocytes. **Batrow PL**, Gautier N, Rochet N, Rekima S, Maret M, Mothe-Satney I and Amri EZ.

- 17th GERLI LIPIDOMICS MEETING, Saint-Jean-Cap-Ferrat, 6-9 novembre 2022.

Effect of PPAR $\alpha$  deletion specifically in brown adipocytes on adipocytes biology.

**Batrow P-L**, Gautier N, Rochet N, Rekima S, Maret M, Mothe-Satney I and Amri EZ.

### Posters :

- 31st European Congress on Obesity, Venice, 12-15 mai 2024.

miR-1 promotes browning of human white adipocytes through modulation of metabolic and thermogenic genes. Díez-Sainz E, Lorente-Cebrián S, Milagro F, Riezu-Boj JL, **Batrow PL**, Contu L, Gautier L, Amri EZ, Mothe-Satney I, and Aranaz P.

- Journées de L'Ecole Doctorale 85, Nice, mai 2022.

Role of PPAR $\alpha$  in browning of human white adipocyte. **Batrow PL**, Gautier N, and Amri EZ.

- 16th GERLI LIPIDOMICS MEETING, Bordeaux, 26-29 septembre 2021.

Effects of fatty acid metabolites on adipocytes browning: role of thromboxane A2. Colson C, **Batrow PL**, Dieckmann S, Contu L, Balas L, Vigor C, Fourmaux B, Gautier N, Rochet N, Bernoud-Hubac N, Durand T, Langin D, Klingenspor M and Amri EZ.

## Liste des abréviations

- 15d-PGJ2** : 15-desoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J2
- 18-FDG** : 18-fluorodeoxyglucose
- ACC** : Acétyl-CoA Carboxylase
- ACLY** : ATP Citrate Lyase
- AdipoR** : Adiponectin Receptor
- ADRB** : beta ADRenergic Receptor ,Récepteur beta-ADRénergique
- AF-1** : Activation Function-1 motif
- AG** : Acide Gras
- AGPI** : Acides Gras PolyInsaturés
- AMPc** : d'Adénosine MonoPhosphate cyclique
- AMPK** : AMP-Activated Protein Kinase
- ANGPTL** : Angiopoietin like
- ANP** : Atrial Natriuretic Peptide
- AQP7** : Aquaporine 7
- ARA** : Acide Arachidonique
- ATGL** : Adipose Triglyceride Lipase
- ATU** : Autorisation Temporaire d'utilisation
- BCAA** : Branch Chained Amido Acids, acides aminés à chaîne ramifiée
- BMP** : Bone Morphogenetic Protein, Protéine Osseuse Morphogénétique
- BNP** : Brain Natriuretic Peptide
- CACT** : Carnitine-AcylCarnitine Translocase
- CD36** : Cluster de Différenciation 36
- C/EBP** : CCAAT Enhancer Binding Protein
- ChREBP** : Carbohydrate-Responsive Element-Binding Protein
- CLS** : Crown-Like Structure
- COX** : Cyclooxygénase
- CPT** : Carnitine PalmitoylTransferase
- CRE** : C/EBP Response Element
- CTGF** : Connective Tissue Growth Factor
- DBD** : DNA Binding Domain, Domaine de Liaison à l'ADN
- DEXA** : Dual X-ray Absorptiometry, absorptiomètre biphotonique à rayons X
- DG** : Diglycéride
- DGAT** : DiacylGlycérol AcylTransférase
- DNL** : De Novo Lipogenesis, Lipogénèse De Novo
- DT2** : Diabète de type 2

**EBF2** : Early B Cell Factor-2  
**EGR** : Early Growth Response protein  
**ERK** : Extracellular signal-Regulated Kinase  
**FABP** : Fatty Acid Binding Protein  
**FAHFA**: Fatty Acid esters of Hydroxy hydroxy Fatty Acids  
**FASN** : Fatty Acid Synthase  
**FAT** : Fatty Acid Translocase  
**FATP** : Fatty Acid Transport Protein  
**FGF** : Fibroblast Growth Factor  
**FNDC5** : Fibronectin type III domain containing 5  
**FSV** : Fraction Stroma-Vasculaire  
**FTO** : FaT mass and Obesity associated gene  
**G3P** : Glycérol-3-Phosphate  
**GATM** : Glycine amidinotransferase  
**GK**: Glycerol Kinase  
**GLP-1**: Glucagon Like Peptide 1  
**GPCR** : G protein-Coupled Receptor, Récepteur Couplé aux protéines G, récepteurs couplés aux protéines G  
**GPIHBP1** : GlycosylPhosphatidylinositol-anchored High density lipoprotein-Binding Protein 1  
**GYS** : Glycogène Synthase  
**HAS**: Haute Autorité de Santé  
**HK2** : HexoKinase 2  
**hMADS** : human Multipotent Adipose-derived Stem  
**HSL** : Hormono-Sensitive Lipase  
**IBMX** : 3-IsoButyl-1-MéthylXanthine  
**IL** : Interleukine  
**IMC** : Indice de Masse Corporelle  
**IGF-1** : Insulin Growth Factor 1  
**INSERM** : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale  
**KLF** : Kruppel-Like factor  
**LBD** : Ligand Binding Domain , Domaine de Liaison au Ligand  
**LEPR** : LEP Receptor, Récepteur à la Leptine  
**LDL** : Low Density Lipoprotein, Lipoprotéine de basse densité  
**LOX** : Lipoxygénase  
**LPL** : Lipoprotein Lipase  
**MAFLD** : Metabolic dysfunction-Associated Fatty Liver Disease  
**MCP1** : Monocyte Chemoattractant Protein-1  
**MCR** : Melanocorticoïd Receptor



**MCT** : MonoCarboxylic Transporter  
**MEC** : Matrice Extra-Cellulaire  
**MGL** : MonoacylGlycérol Lipase  
**miARN** : micro-ARN  
**Mi-CK** : Mitochondrial Creatine Kinase, créatine kinase mitochondriale  
**MME**: Metabolically activated Macrophage, Macrophage active métaboliquement  
**MPC** : Mitochondrial Pyruvate Carrier  
**MTRNL** : Meteorin-like  
**NAFLD** : Non-Alcoholic Fatty Liver Disease  
**NASH** : Non-Alcoholic Steato Hepatitis, Stéatohépatite non alcoolique  
**NO** : Nitric Oxyde  
**NPR** : Natriuretic Peptide Receptor  
**NRG4** : Néréguline 4  
**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economiques  
**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**PC** : Pyruvate Carboxylase  
**PCSK1** : Proconvertase 1  
**PDE3B** : PhosphoDiEstérase 3B  
**PDGFR**: Platelet-Derived Growth Factor Receptor  
**PDH** : pyruvate déshydrogénase  
**PDK** : PDH Kinase  
**PET-CT** : Positron Emission Tomography-Computed Tomography, Tomographie par Emission de Positons  
**PG** : Prostaglandine  
**PGC1 $\alpha$**  : Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1-Alpha  
**PI3K** : PhosphoInositide 3-Kinase  
**PK** : Protéine Kinase  
**PLIN** : Périlipine  
**PPAR** : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  
**PPRE**: Peroxisome Proliferator Response Element  
**POMC** : Pro-OpioMélanCortine  
**PRDM16** : PR Domain containing 16  
**Pref-1** : Preadipocyte Factor 1  
**RE**: Réticulum Endoplasmique  
**Rho-A** : Ras homolog family member A  
**ROS** : Reactive Oxygen Species, espèces réactives de l'oxygène  
**RXR**: 9-cis Retinoic Receptor, Récepteur de l'acide 9-cis Rétinoïque  
**RYR** : Récepteur à la ryanodine

**SCD1**: Stearoyl-CoA 9-desaturase  
**SERCA2b** : sarco/réticulum endoplasmique Ca<sup>2+</sup>-ATPase  
**SMAD** : Small Mother Against Decapentaplegic  
**SPM** : specialized proresolving lipid mediators  
**SPPARM $\alpha$**  : selective PPAR $\alpha$  Modulator  
**SREBP** : Sterol Regulatory Element-Binding Protein  
**TA** : Tissu Adipeux  
**TAsc** : Tissu Adipeux Blanc Sous-Cutané  
**TA<sub>v</sub>** : Tissu Adipeux Blanc Viscéral  
**TCA** : Tricarboxylic acid cycle, cycle de Krebs  
**TNF- $\alpha$**  : Tumour Necrosis Factor-alpha  
**TG**: Tryglycéride  
**TGF $\beta$**  : Transforming Growth Factor beta  
**TH** : Tyrosine-Hydroxylase  
**TRE** : Tyroid hormone Response Element  
**TRP** : Transient Receptor Potentiel  
**TZD**: Thiazolidinediones  
**UCP1** : UnCoupling Protein 1, Protéine DéCouplante 1  
**VEGF**: Vascular Endothelial Growth Factor, Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire  
**VEGFR** : Récepteur au VEGF  
**YAS** : Yes-Associated Protein  
**ZFP** : Zinc Finger Protein, Protéine à Doigt de Zinc

## Liste des figures

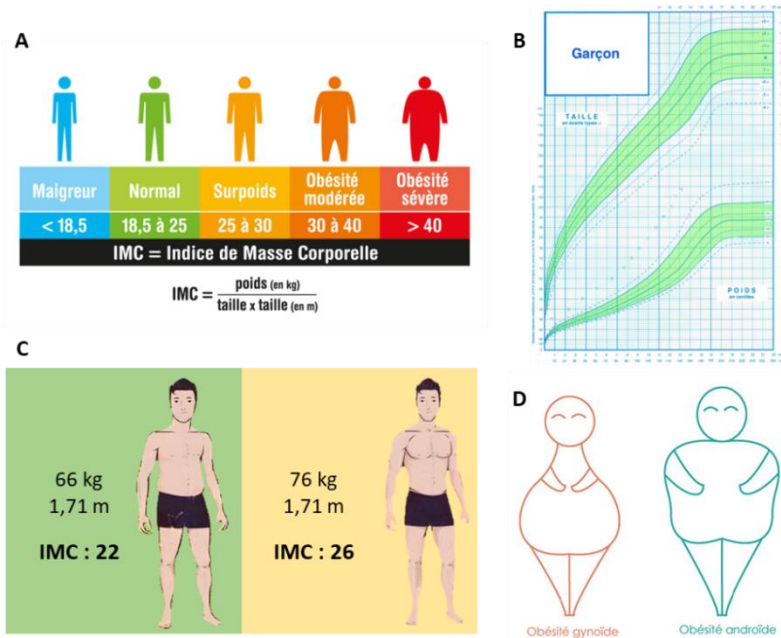
Figure 1 : Les différentes méthodes de diagnostic de l'obésité.....	20
Figure 2: Historique et prévalence actuelle de l'obésité.....	23
Figure 3: Dynamiques du surpoids et de l'insuffisance pondérale.....	24
Figure 4: Déséquilibre de la balance énergétique.....	26
Figure 5: Facteurs modulant la balance énergétique.....	27
Figure 6: Régulation de la prise alimentaire et de la dépense énergétique au niveau central.....	28
Figure 7: Caractéristiques des obésités monogéniques et polygéniques.....	29
Figure 8: Comorbidités associées à l'obésité.....	31
Figure 9: Relation entre IMC et mortalité.....	34
Figure 10: Objectifs de la gestion du poids.....	35
Figure 11: Stratégies de prise en charge de l'obésité.....	37
Figure 12: Distribution anatomique du tissu adipeux blanc chez l'homme et la souris.....	40
Figure 13: Conséquences métaboliques de la distribution du TA.....	41
Figure 14: Le tissu adipeux blanc et sa diversité cellulaire.....	42
Figure 15: L'adipocyte blanc.....	47
Figure 16: Les trois isotypes des PPARs.....	50
Figure 17: Activation transcriptionnelle par les PPARs.....	51
Figure 18: La structure de PPARG.....	52
Figure 19: L'adipogenèse blanche.....	55
Figure 20: Transport de nutriments vers le TA.....	58
Figure 21: Métabolisme du glucose et synthèse lipidique des adipocytes blancs.....	60
Figure 22: Régulation transcriptionnelle de la lipogenèse de novo.....	62
Figure 23: Contrôle de la lipolyse de l'adipocyte blanc.....	65
Figure 24: Présence de tissu adipeux thermoénique actif chez l'homme adulte.....	71
Figure 25: Distribution anatomique du tissu adipeux brun chez la souris et l'homme.....	72
Figure 26: Morphologie du tissu adipeux brun.....	73
Figure 27: Adipocyte beige et adipocyte brun.....	75
Figure 28: Lignage cellulaire des adipocytes blancs, beiges et bruns.....	79
Figure 29: Les différentes différenciations des cellules hMADS.....	80
Figure 30: Morphologie des cellules hMADS pendant la différenciation adipocytaire.....	81
Figure 31: Protocole de différenciation des cellules hMADS en adipocytes blancs et beiges.....	82
Figure 32: Découplage de la respiration mitochondriale.....	85
Figure 33: Structure de la protéine UCP1.....	86
Figure 34: Modèles de transport des protons par la protéine UCP1.....	88
Figure 35: Contrôle de l'expression d'Ucp1 au niveau de son promoteur.....	90
Figure 36: Facteurs circulants et activation thermogénique.....	93
Figure 37: Les différents agonistes de PPAR $\alpha$ et de PPAR $\gamma$ .....	97
Figure 38: Passage des acides gras vers la matrice mitochondriale.....	101
Figure 39: La $\beta$ -oxydation des acides gras.....	102
Figure 40: Flexibilité métabolique de l'adipocyte brun.....	107
Figure 41: La thermogenèse indépendante d'UCP1.....	110
Figure 42: Stimulation mécanique et adipogenèse.....	119
Figure 43: La structure de PIEZO1 et régulation de son activité.....	121
Figure 44: Expression de Piezo1 dans le tissu adipeux dans deux modèles d'obésités.....	211
Figure 45: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur la prise de poids, la tolérance au glucose et la lipolyse.....	212

<b>Figure 46: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur les poids relatifs de TA et du foie ..</b>	<b>213</b>
<b>Figure 47: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur l'expression de marqueurs thermogéniques dans ce tissu.....</b>	<b>215</b>
<b>Figure 48: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur l'expression de marqueurs thermogéniques dans le TA blanc sous-cutané .....</b>	<b>217</b>
<b>Figure 49: Régulation de l'expression de Piezo1 dans le TA brun par le froid et la lipolyse .....</b>	<b>218</b>
<b>Figure 50: Schéma récapitulatif des résultats obtenus in vitro sur le brunissement des adipocytes hMADS .....</b>	<b>221</b>
<b>Figure 52 : Schéma récapitulatif des résultats obtenus in vivo chez la souris .....</b>	<b>223</b>

# A) L'obésité

## Définition et diagnostic

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), le surpoids et l'obésité sont définis comme une accumulation anormale ou excessive de graisse, qui nuit à la santé. De ce fait, l'obésité représente le premier facteur de risque d'invalidité et une des principales causes de mortalité dans le monde. Le calcul de l'indice de masse corporel (IMC) est le moyen le plus simple pour estimer le surpoids et l'obésité (**Figure 1A**). Il est égal à la masse corporelle (en kilogrammes) divisée par le carré de la taille (en mètre). Chez l'adulte, un IMC compris entre 18,5 et 25 kg/m<sup>2</sup> est considéré comme normal. Lorsque l'IMC est compris entre 25 et 30 kg/m<sup>2</sup>, on parle de surpoids (surcharge pondérale). Au-delà d'un IMC de 30 kg/m<sup>2</sup>, un individu est considéré comme obèse. L'obésité morbide est définie par un IMC supérieur à 40 kg/m<sup>2</sup> ou supérieur à 35 s'il y a au moins une comorbidité (hypertension, diabète). Depuis 1997, l'OMS définit cet indice de masse corporelle comme une norme pour évaluer les risques liés au surpoids chez l'adulte. Depuis, l'OMS reconnaît l'obésité comme une maladie chronique et une épidémie mondiale.



**Figure 1 : Les différentes méthodes de diagnostic de l'obésité.**

L'indice de masse corporel (IMC) permet de mesurer l'obésité (A). L'IMC n'est cependant pas adapté pour toutes les populations, notamment les enfants chez qui les courbes de croissances sont privilégiées (B). L'IMC ne prend pas en compte le taux de masse maigre (C) ou la répartition de la masse grasse (gynoïde ou androïde) qui peut moduler les conséquences de l'obésité (D).

Obtenu facilement et sans équipement coûteux, le calcul de l'IMC est généralisé. Cependant, cet indicateur doit être interprété avec précaution et complété par la mesure d'autres paramètres comme le tour de taille, tour de hanches ou même le tour de cou (Kroll et al., 2017). En effet, l'IMC ne prend pas en compte la localisation et la distribution du tissu adipeux (TA) ainsi que le pourcentage de masse musculaire (**Figure 1C**). La répartition du TA peut varier notamment selon l'âge et le sexe (**Figure 1D**). Lorsque celui-ci s'accumule dans la région abdominale, on parle d'obésité androïde ou abdominale (Vague, 1947; Ley et al., 1992). Ce type d'obésité est fréquemment observé chez les hommes. En revanche, on parle d'obésité gynoïde lorsque le TA s'accumule dans les cuisses, les hanches et en périphérie au niveau sous-cutané. Cette répartition variable du TA peut moduler les conséquences associées à l'obésité. Les individus présentant une obésité androïde ont un risque de comorbidité plus élevé que ceux atteints d'obésité gynoïde, et ce, indépendamment de leur IMC (Després, 2012; Després and Lemieux, 2006; Després, 2012). De même, on retrouve des associations positives entre graisse viscérale et mortalité (Ross et al., 2006). Par ailleurs, l'IMC n'est pas adapté pour les grands sportifs et les personnes âgées de plus de 65 ans. Enfin, chez les enfants, l'utilisation des courbes de croissances est privilégiée (**Figure 1B**).

Pour prendre en compte la répartition de la masse grasse durant l'obésité, d'autres variables, facilement mesurables sans équipement coûteux, peuvent être utilisées. L'obésité dite abdominale est alors caractérisée lorsque le tour de taille est supérieur à 88,9 cm pour les femmes et supérieur à 101,6 cm pour les hommes (Uzogara, 2017, Ross et al., 2020). Le risque relatif de développer des comorbidités associées à l'adiposité viscérale peut aussi être déterminé grâce au ratio « tour de taille / tour de hanches ». Lorsque ce rapport est supérieur à 1 chez l'homme ou supérieur à 0,9 chez la femme, l'individu présente plus de risque de complications de l'obésité qu'un individu ayant une répartition majoritairement sous-cutanée de sa masse grasse (Lee et al., 2008). En complément des variables évoquées précédemment, les quantités corporelles d'eau, de TA et de muscle peuvent être déterminées par impédancemétrie. Des techniques d'imagerie basées sur l'absorptiomètre biphotonique à rayons X (Dual X-ray Absorptiometry, DEXA) permettent de quantifier la proportion des dépôts adipeux selon leur localisation ainsi que de déterminer les proportions de masses musculaire et osseuse.

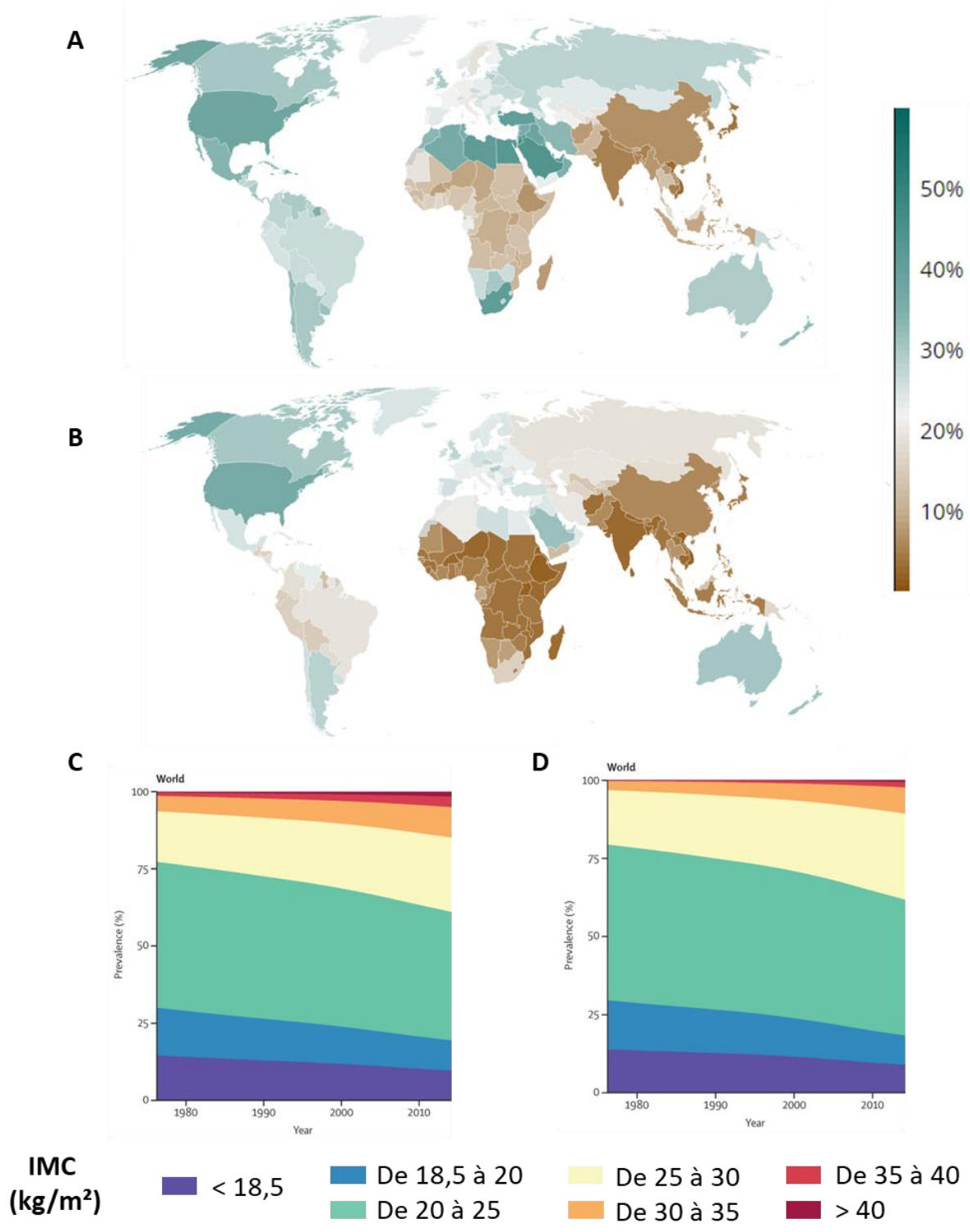
## Prévalence et historique

En France

Selon une étude de l'INSERM, 47% de la population française étaient en surpoids en 2020 (Fontbonne et al., 2023). Chez les adultes, les hommes sont plus concernés que les femmes (53,5% contre 41,3%). De plus, 17% de la population française serait en situation d'obésité (17,4% chez les femmes contre 16,7 % chez les hommes). Ces données sont issues de l'enquête épidémiologique de l'obésité (ObEpi) menée depuis 1997. La prévalence de l'obésité est ainsi passée de 8,5 % en 1997 à 17 % en 2020. L'augmentation est encore plus marquée dans les groupes d'âge les plus jeunes et pour l'obésité morbide. Depuis 1997, l'obésité chez les 18-24 ans a été multipliée par plus de 4, et par près de 3 chez les 25-34 ans, tandis que l'augmentation chez les 55 ans et plus est faible surtout depuis 2009. L'étude ObEpi a montré que l'IMC moyen est passé de 24,3 kg/m<sup>2</sup> en 1997 à 25,5 kg/m<sup>2</sup> en 2020. Le tour de taille moyen des hommes est passé de 95,1 cm en 2012 à 95,6 cm en 2020. En revanche chez les femmes, cette augmentation est plus marquée. En effet, le tour de taille moyen des femmes est passé de 86,5 cm en 2012 à 88,7 cm en 2020. Par ailleurs, l'étude ObEpi montre aussi des disparités régionales et socio-économiques face à la prévalence de l'obésité.

La pandémie d'obésité

Au niveau mondial, la tendance reste la même. Selon l'OMS, en 2016, 39% des adultes étaient en surpoids et 13% en situation d'obésité ce qui représente près de 700 millions de personnes ayant un IMC supérieur à 30 kg/m<sup>2</sup> (**Figure 2A et 2B**). Les dernières données semblent même indiquer que ce nombre aurait déjà dépassé le milliard (Phelps et al., 2024). En 40 ans, la prévalence du surpoids et de l'obésité a plus que doublé, atteignant ainsi des proportions épidémiques (**Figure 2C et 2D**). Cette augmentation est observée dans toutes les tranches d'âges (Abarca-Gómez et al., 2017). Autrefois cantonnée aux pays à revenu élevé dans lesquels les taux de surpoids ou d'obésité dépassent souvent les 50% actuellement, le surpoids et l'obésité se développent massivement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire (Ng et al., 2014). De ce fait, l'OMS estime qu'en 2030, près de la moitié de la population mondiale sera en situation d'obésité ou de surpoids.

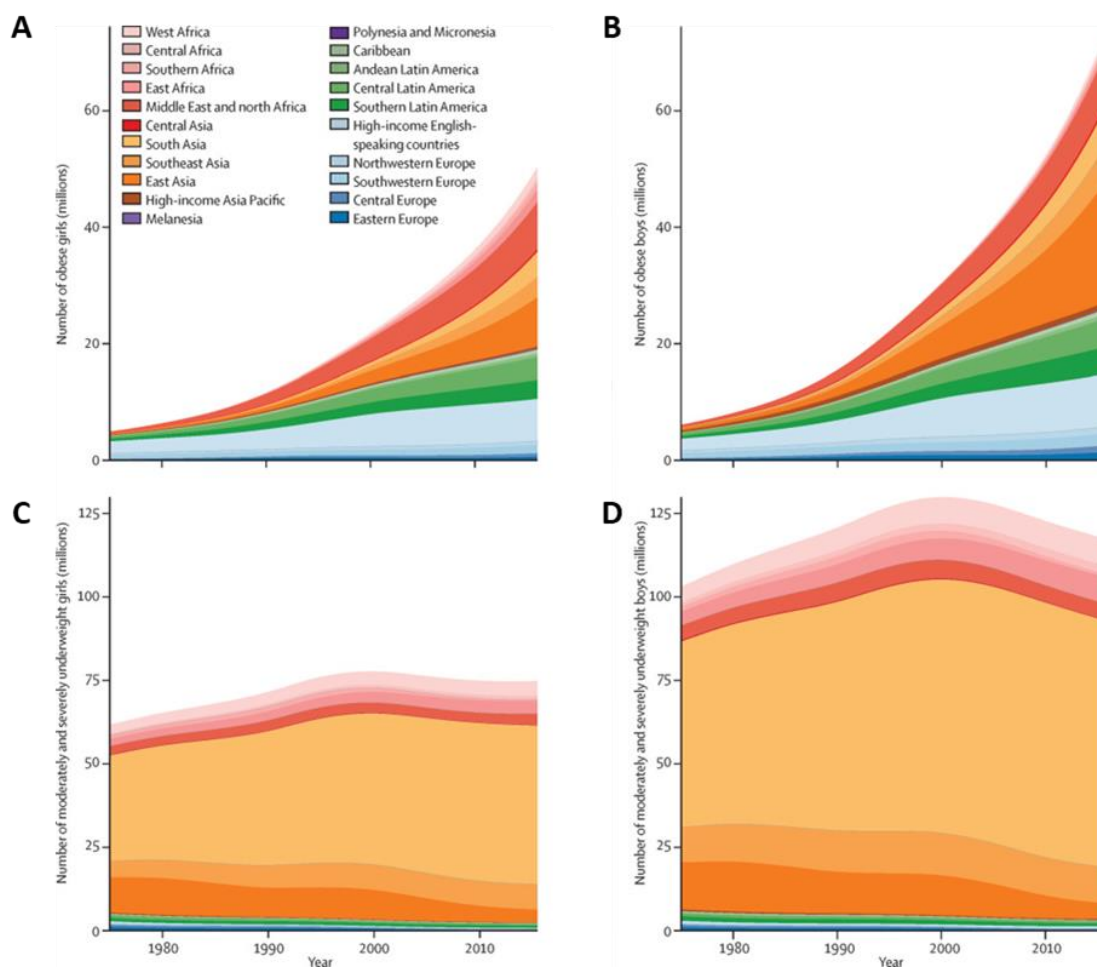


**Figure 2: Historique et prévalence actuelle de l'obésité**

Prévalence actuelle chez les femmes (A) et les hommes (B) de plus de 20 ans. Evolution de l'IMC dans le monde entre 1975 et 2014 chez les femmes (C) et les hommes (D) de plus de 20 ans. Données moyennes normalisées par l'âge, d'après NCD Risk Factor Collaboration (NCD RiskC).



Dans le monde, le nombre de filles et de garçons souffrant d'insuffisance pondérale modérée ou sévère a atteint son pic vers l'an 2000, puis a diminué pour atteindre 75 millions de filles et 117 millions de garçons en 2016 (**Figure 3C et 3D**). Actuellement, à l'échelle mondiale, les personnes en situation d'obésité sont finalement plus nombreuses que les personnes en insuffisance pondérale (**Figure 3A et 3B**).



**Figure 3: Dynamiques du surpoids et de l'insuffisance pondérale**

Evolution de l'obésité dans le monde entre 1975 et 2016 chez les filles (A) et les garçons (B). Evolution de l'insuffisance pondérale dans le monde entre 1975 et 2016 chez les filles (C) et les garçons (D). D'après NCD Risk Factor Collaboration (NCD RiskC).

Il paraît donc essentiel de poursuivre les efforts pour comprendre la physiopathologie de l'obésité afin d'endiguer cette épidémie.

## Etiologie de l'obésité

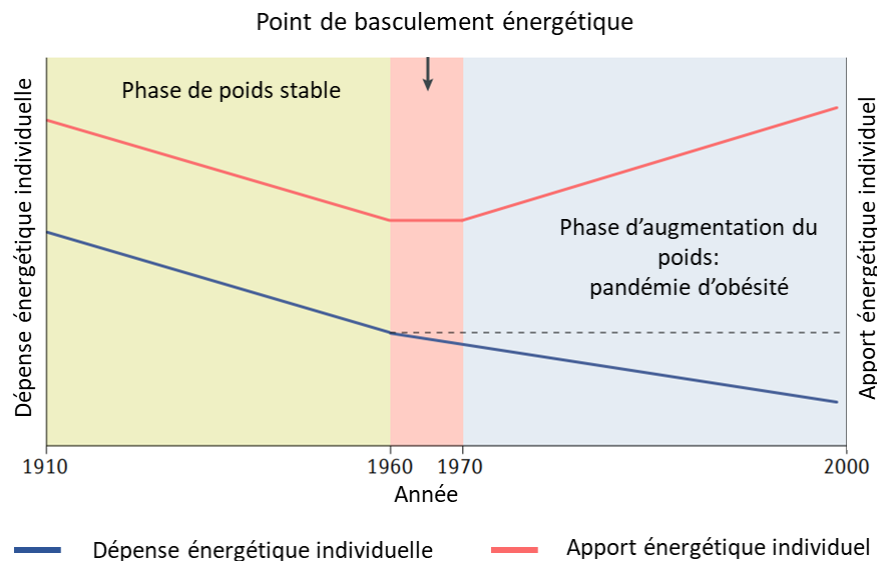
L'obésité est due à des interactions entre facteurs environnementaux et génétiques. Elle résulte d'une balance énergétique positive sur le long terme.

### Notions de balance énergétique

Lorsque les apports énergétiques sont supérieurs aux dépenses, la balance énergétique est positive favorisant la prise de poids. L'apport nécessaire pour maintenir sa masse corporelle et couvrir ses besoins est d'environ 2000 kcal/j pour une femme et environ 2500 kcal/j pour un homme. La dépense énergétique de l'organisme varie en fonction de plusieurs facteurs. Au repos, la dépense énergétique permet le maintien des fonctions biologiques de base telles que l'activité cardiaque, respiratoire, gastro-intestinale ou encore rénale, représentant 60% de la dépense énergétique quotidienne. La thermogenèse postprandiale correspond à l'énergie utilisée pour la digestion, l'absorption, le transport et le stockage de nutriments, ce qui représente 10 % de la dépense énergétique (Westerterp, 2017). Enfin, la dépense énergétique dépend de l'activité physique, très variable selon les individus. En effet, elle peut représenter 20 à 30 % de la dépense énergétique quotidienne chez un individu sédentaire contre 50 à 60 % chez un individu très actif (Bergouignan and Blanc, 2006; Hunter et al., 1998 ; Weinsier et al., 1998). Le risque de surpoids est considérablement plus élevé chez les individus sédentaires (21% chez les femmes et 14% chez les hommes) par rapport aux individus physiquement actifs (femme 8% et homme 7%) (Rissanen et al., 1991). L'adoption de comportements sédentaires est en partie déterminée par le mode de vie et son environnement.

Au niveau mondial, la prévalence du surpoids et de l'obésité est croissante depuis les années 80. Cette augmentation suit de près le passage d'un hypothétique point de dérégulation de la balance énergétique ("energy flipping point") dans les pays à haut revenu, surtout aux Etats-Unis (**Figure 4**). Avant cette période, la mécanisation ainsi que l'évolution du mode de vie ont permis une diminution de la dépense énergétique moyenne. Cependant, dans le même temps, l'apport énergétique diminuait également. A partir des années 60, l'activité physique continue de diminuer alors que l'apport énergétique augmente. La mécanisation et l'industrialisation aboutit à l'augmentation de la disponibilité de denrées alimentaires bon marché. Par ailleurs, la part d'aliments transformés contenant des graisses et glucides raffinés augmente fortement dans les années 60 et 70. Dans le même temps, la taille des

portions a également augmenté dans les années 1970 et 1980, parallèlement à l'augmentation du poids corporel (Young and Nestle, 2002). Or, une balance énergétique quotidienne positive d'environ 5 % est suffisante pour induire une augmentation annuelle de 5 kg de TA, favorisant le développement de l'obésité (Swinburn et al., 2004 ; Ziegler et al., 2000). La consommation d'aliments palatables a aussi tendance à augmenter l'apport calorique en activant le circuit de la récompense (Volkow et al., 2012 ; Freeman et al., 2018).

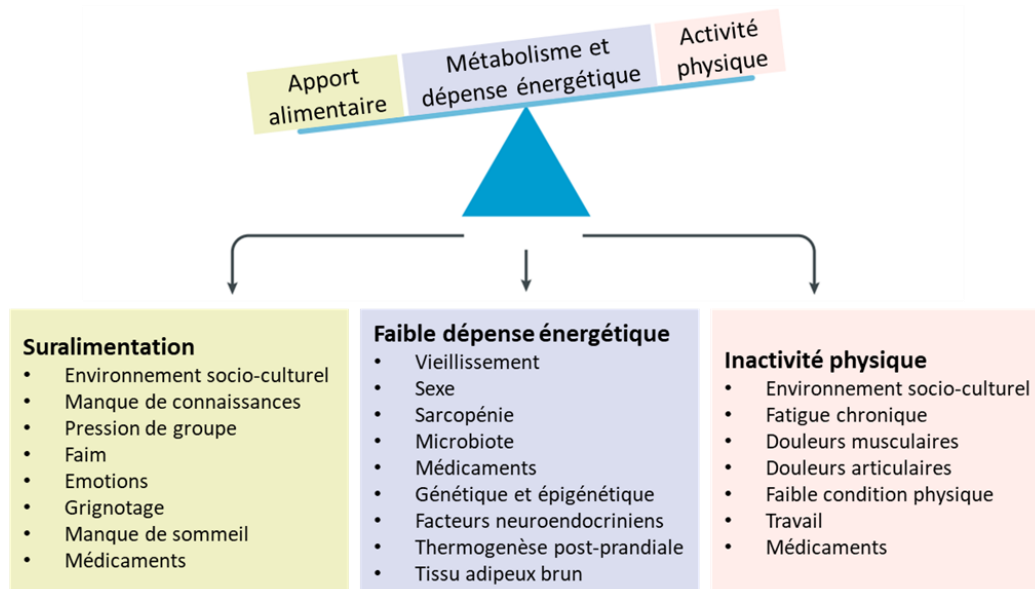


**Figure 4: Déséquilibre de la balance énergétique**

Aux Etats-Unis, entre 1910 et 1960, la dépense énergétique a diminué en raison des changements techniques sur le lieu de travail (mécanisation ...). Cette réduction de la dépense énergétique s'est accompagnée d'une réduction parallèle de l'apport énergétique et a abouti à une phase de poids stable. Par la suite, en raison de l'augmentation de la production d'aliments à forte densité énergétique, l'apport énergétique a augmenté sans réajustement de la dépense énergétique. Cette rupture de l'équilibre de la balance énergétique marque le début de la phase de prise de poids aux Etats-Unis. (D'après Blüher, 2019).

De nombreux facteurs psychologiques et environnementaux peuvent aussi modifier la balance énergétique (**Figure 5**). Le stress ou l'anxiété sont par exemple associés à une prise alimentaire accrue (Sinha et al., 2018). Par ailleurs, la prise alimentaire au cours d'un repas est modulée par le contexte de ce repas. Le fait de manger seul est par exemple associé à des mauvaises habitudes alimentaires. Les hommes mangeant seuls ont plus de risque d'être en situation d'obésité surtout s'ils vivent seuls (Tani et al., 2015). La qualité de l'alimentation des personnes qui mangent seules était inférieure à celle des personnes qui mangent ensemble (Hanna and Collins, 2015; Chae et al., 2018) Récemment, la pandémie de Covid-19

a mis en évidence nombre de ces facteurs modulant la balance énergétique. Les périodes de confinement successives ont entraîné une modification du mode de vie, une diminution de l'activité physique et une augmentation des comportements sédentaires, tels que l'utilisation d'écrans de travail et de loisirs. De plus, les habitudes alimentaires ont été modifiées par le confinement. Le grignotage, la consommation de produits gras, sucrés, salés, la sédentarité, l'anxiété, le stress et les troubles du sommeil ont pu entraîner une augmentation de la corpulence, particulièrement chez les moins de 40 ans.



**Figure 5: Facteurs modulant la balance énergétique**

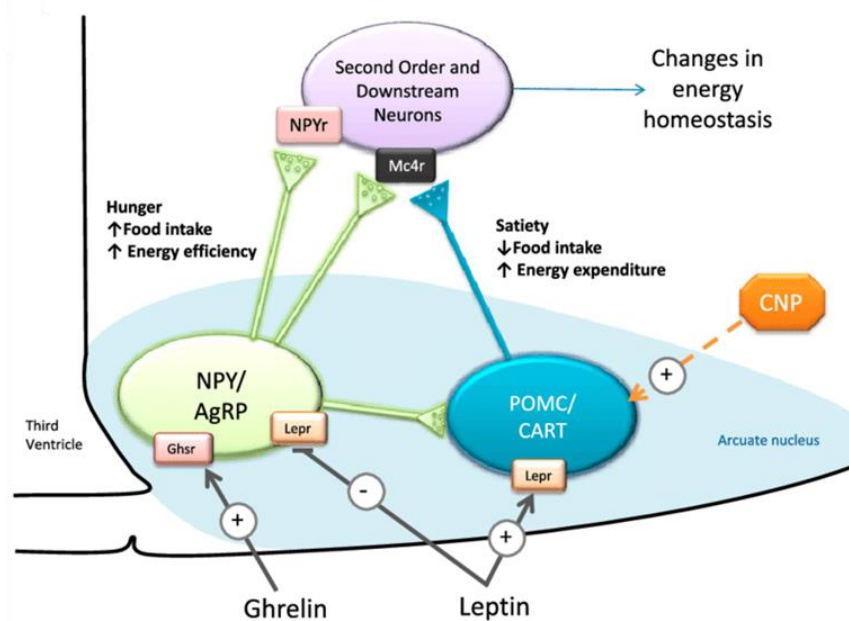
La prise de poids peut résulter d'une combinaison de facteurs environnementaux et génétiques responsables de l'augmentation de l'apport énergétique, d'une faible activité physique et d'une réduction de la dépense énergétique. D'après (Blüher, 2019) et (Sharma et al., 2010).

## Facteurs génétiques et obésité

Bien que l'altération des modes de vies et des habitudes alimentaires soit primordiale dans la pandémie actuelle d'obésité, il existe une grande inégalité face à la prise, le maintien ou la perte de poids. Par ailleurs, il existe des cas d'héritabilité d'obésité. Il y a une corrélation positive entre le risque pour un enfant de développer une obésité et l'IMC de ses parents biologiques. Cette corrélation pourrait, en partie, être liée à la transmission d'habitudes alimentaires. Cependant, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre le risque de développer une obésité et l'IMC de parents adoptifs (Stunkard et al., 1986). Des études réalisées chez des jumeaux indiquent également que l'héritabilité génétique représente un facteur de risque de développement de l'obésité (Silventoinen et al., 2017).

## Obésités monogéniques

Certaines mutations affectant notamment la régulation de la prise alimentaire sont directement à l'origine d'obésités dites monogéniques. Ces formes très particulières sont sévères et se développent dès l'enfance. De nombreux gènes à l'origine d'obésités monogéniques ont été identifiés chez des modèles animaux présentant spontanément une obésité et/ou une hyperphagie. C'est le cas par exemple de mutations dans le gène codant la leptine (LEP) (Montague et al., 1997), ou de son récepteur (LEPR) (Farooqi et al., 2007). La leptine étant une hormone anorexigène sécrétée par le TA impliquée dans le contrôle de la satiété. Des mutations affectant des cibles indirectes de la leptine au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus induisent également des obésités monogéniques (**Figure 6**). On peut notamment citer la pro-opiomélanocortine (POMC), la proconvertase 1 (PCSK1) (Jackson et al., 1997) qui clive POMC (Clément et al., 2020), le récepteur aux mélanocortines de type 3 ou 4 (MC3R et MC4R) (Lubrano-Berthelier et al., 2006).

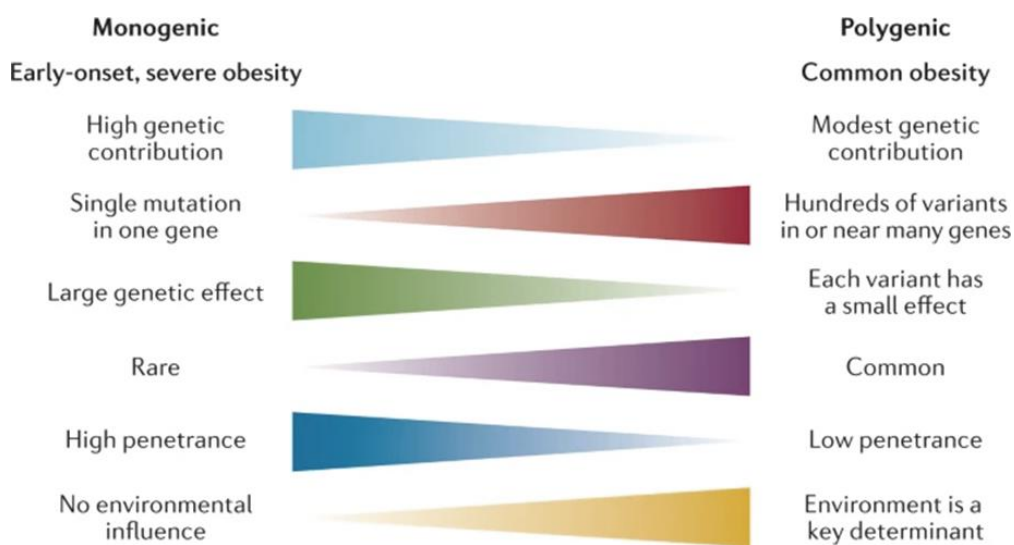


**Figure 6: Régulation de la prise alimentaire et de la dépense énergétique au niveau central**

Représentation des neurones POMC et NPY/AgRP dans le noyau arqué hypothalamique. Ces neurones ont des fonctions opposées, POMC étant anorexigène réduisant la consommation alimentaire, alors que NPY est orexigène. Leur activité est modulée par des signaux hormonaux tels que la leptine et la ghréline. Des mutations de gènes impliqués dans cette voie de contrôle induit des obésités dites monogéniques qui se développent rapidement dès l'enfance. (D'après Berkseth et al., 2013).

Les polymorphismes

Les cas extrêmes d'obésités monogéniques restent très rares. En revanche, il existe des cas de polymorphismes génétiques associés à l'obésité (**Figure 7**). Des études d'association pangénomique (ou GWAS pour Genome-Wide Association Study) ont identifié, pour la première fois en 2007, un variant du gène FTO (Fat mass and obesity-associated) prédisposant à l'obésité (Frayling et al., 2007). Les porteurs d'une copie de l'allèle identifié pesaient en moyenne 1,2 kilogramme de plus que les personnes ne possédant pas cette copie. Les porteurs homozygotes pesaient 3 kilogrammes de plus et avaient un taux d'obésité 1,67 fois plus élevé que dans la population non porteuse. Les premières études pangénomiques ayant pour but de rechercher ces polymorphismes n'intégraient dans leur recherche que l'IMC. Au regard de ces limites, de nombreux autres paramètres ont, par la suite, été intégrés aux études pangénomiques (pourcentage de masse grasse, niveau circulant de leptine et même des facteurs démographiques ou environnementaux).



**Figure 7: Caractéristiques des obésités monogéniques et polygéniques**

Les obésités monogéniques sont rares, se développent tôt et rapidement. Au contraire, les obésités polygéniques sont, en général, plus lentes à se développer et beaucoup plus dépendante de facteurs environnementaux. D'après (Loos et Yeo, 2022).

Epigénétique

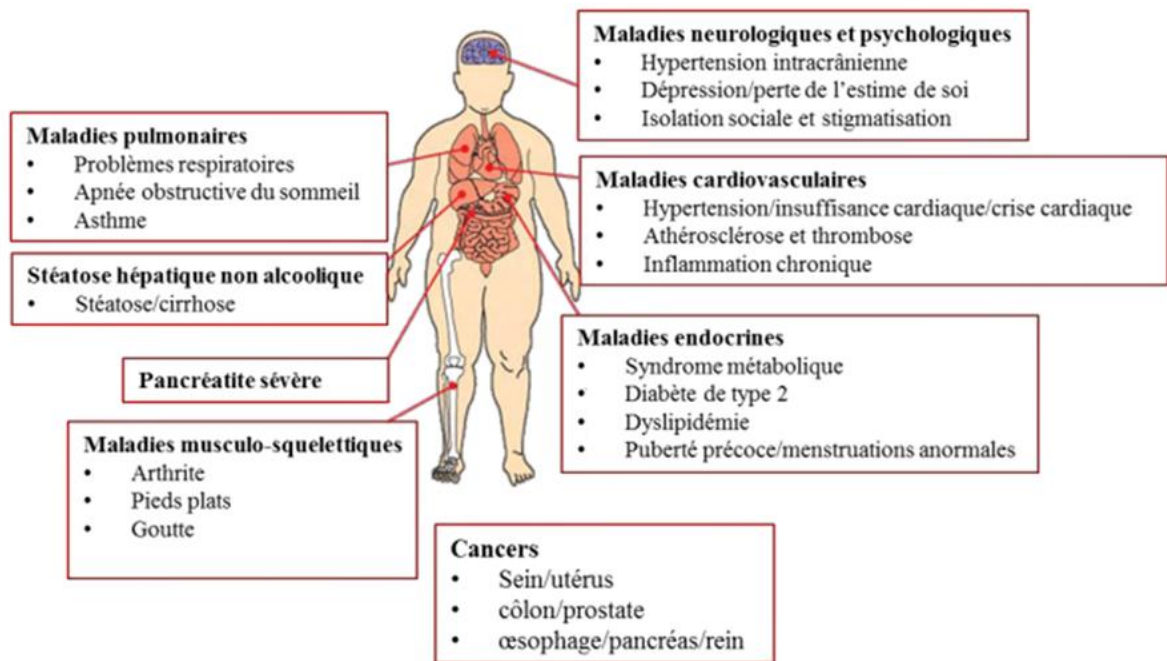
En plus du dérèglement de la balance énergétique liée au mode de vie, des mutations et polymorphismes génétiques, l'obésité peut être la conséquence de modifications épigénétiques. L'épigénétique correspond à l'étude des changements d'expressions géniques sans modification des séquences nucléotidiques. On peut notamment citer le

niveau de méthylation de l'ADN régulant l'accès de la machinerie de transcription, les modifications des histones ou encore les inhibitions géniques des micro-ARNs (miARN ou miR). Ces modifications peuvent notamment être régulées par le statut nutritionnel, la restriction calorique ou encore la chirurgie bariatrique. Par ailleurs, l'environnement intra-utérin joue un rôle crucial dans le développement du fœtus et il a été démontré qu'il joue un rôle dans la reprogrammation épigénétique à long terme (Finer et al., 2016). Des exposition in utéro à des famines en temps de guerre ont par exemple montré que les niveaux de méthylations du gène de la leptine étaient augmentés après une restriction calorique prénatal (Tobi et al., 2009). Ainsi, certaines modifications épigénétiques affectant les gènes du métabolisme énergétique ou contrôlant la prise alimentaire pourraient être utilisées comme biomarqueurs ou indicateurs précoces de l'obésité ou de ses comorbidités, ou encore pour prédire la perte de poids dans la prise en charge de l'obésité (Milagro et al., 2011 ; Heikkinen et al., 2022). Aussi, les adolescents exposés à la famine présentent un risque plus élevé d'obésité abdominale à l'âge adulte (Song et al., 2022).

### Comorbidités et conséquences socio-économique de l'obésité

Les pathologies associées à l'obésité

L'excès de TA qui caractérise l'obésité peut avoir un impact négatif sur la santé ainsi que la qualité de vie des personnes concernées, en modifiant le fonctionnement du TA mais aussi celui de nombreux autres organes (Uzogara, 2017). Le métabolisme du foie, du pancréas, du cœur, de l'intestin ou encore des muscles squelettiques peut être perturbé par l'obésité et même entretenir cette pathologie (**Figure 8**). L'obésité favorise l'apparition du diabète de type 2 (DT2) en lien avec une insulino-résistance, l'hypertension artérielle, l'inflammation de bas-grade, les dyslipidémies ou encore les atteintes hépatiques. Ces dysfonctions mettent en évidence le dialogue inter-organes très important dans la physiopathologie de l'obésité.



*Figure 8: Comorbidités associées à l'obésité*

L'hypertension artérielle est l'une des complications cardiovasculaires de l'obésité les plus répandues. Elle concerne en effet près de 35% des personnes en situation d'obésité (Seravalle and Grassi, 2017). De plus, l'obésité est associée à des dyslipidémies comme des taux élevés de cholestérol dans le sang, notamment du cholestérol associé aux lipoprotéines de basse densité (Low density Lipoprotein, LDL) pro-athérogènes, mais aussi à des niveaux de triglycérides sanguins anormalement élevés (Faour et al., 2015; Varbo et al., 2014). Cette dérégulation du profil lipidique plasmatique constitue également un facteur de risque des maladies cardiovasculaires. Par conséquent, l'athérosclérose, les maladies coronariennes, les infarctus du myocarde, les insuffisances cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux comptent parmi les maladies associées à l'obésité (Fung et al., 2001; Grundy, 2004, Uzogara, 2017).

Obésité, atteintes hépatiques et cancers

L'obésité est aussi associée à un dépôt lipidique dans le foie (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) (Schaffner et al. 1986). La NAFLD est caractérisée par une stéatose simple sans inflammation, non lié à la consommation d'alcool ou une atteinte hépatique d'origine virale ou médicamenteuse. On estime la prévalence de la NAFLD à 30 à 40 % de la population adulte aux États-Unis (Williams et al., 2011). Récemment, la notion de MAFLD



“Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease” reposant sur des critères d’inclusions différents a émergé afin de mieux recenser ces atteintes hépatiques et mieux identifier les patients à risque de développer des complications métaboliques (Eslam et al., 2020 ; Gofton et al., 2023). Elle peut s’aggraver et évoluer vers la stéatohépatite non alcoolique (NASH, non-alcoholic steato hepatitis) (Ludwig et al., 1980; Lee, 1989 ; Friedman et al., 2018). La NASH correspond à l’accumulation ectopique des lipides au niveau hépatique associée à une inflammation et une nécrose exacerbée, éventuellement accompagné de fibrose (Chalasani et al., 2012). Cette comorbidité est retrouvée chez 50 à 90% des sujets obèses (Divella et al., 2019). Par ailleurs, l’IMC est positivement corrélé au risque de développer une NASH (Ipsen et al., 2018). À des stades plus avancés de la pathologie, la NASH peut évoluer vers une cirrhose voire un carcinome hépatocellulaire (Shimada et al., 2002 ; Mori et al., 2004). Enfin, d’autres formes de cancers sont favorisées par l’obésité, en lien avec l’hyperinsulinémie et la production d’Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) (Hopkins et al., 2016; Bhaskaran et a., 2014).

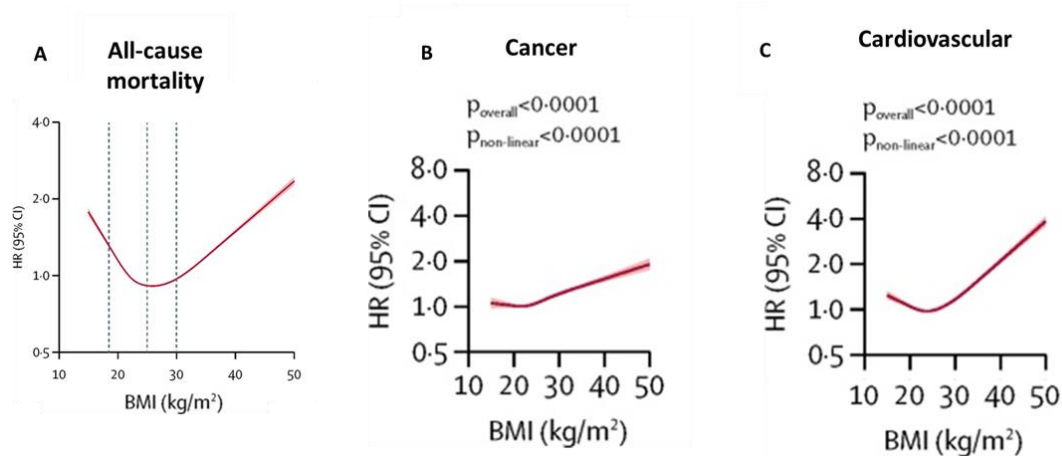
Impact de l’obésité sur la qualité de vie

L’obésité est associée à un risque accru d’apnée du sommeil (Jehan et al., 2017). Il s’agit d’une affection courante caractérisée par des interruptions répétées de la respiration durant le sommeil. Ces interruptions sont dues au blocage partiel ou complet des voies respiratoires supérieures, favorisé par l’accumulation de dépôts adipeux. En conséquence, les échanges respiratoires gazeux sont diminués pouvant aller jusqu’à l’hypoxie et la désaturation en oxygène. Sur le long terme, l’apnée du sommeil affecte durablement la qualité de vie en induisant une fatigue excessive, de la somnolence, des maux de tête, et des troubles de la concentration. Par ailleurs, l’apnée du sommeil est, indépendamment de l’obésité, un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires et l’hypertension artérielle. Les personnes souffrant d’apnée du sommeil ont également un risque accru de développer un trouble dépressif majeur (Jehan et al., 2017). Or, l’obésité est, elle-même associée à une augmentation de ce risque, en lien avec une altération de l’estime de soi, un sentiment d’exclusion ou la pression sociale (Westbury et al., 2023). La stigmatisation ainsi que la discrimination sont également rencontrées dans le domaine de la santé lors de la prise en charge de l’obésité ce qui peut diminuer l’adhésion aux traitements ou même être un frein à la consultation (Brown et al., 2022).

L'obésité est aussi un important facteur de risque de troubles musculosquelettiques. Il est clair que l'obésité est associée à l'incidence et à la progression de l'arthrose, surtout au niveau des membres inférieurs comme les genoux (Raud et al., 2020). En effet, le risque d'arthrose du genou est augmenté de 36% lors d'une prise de poids de 5 kg (Bliddal et al., 2014). Cette association est due notamment à aux plus grandes contraintes mécaniques auxquelles sont soumis les articulations en situation d'obésité. Ce stress mécanique induit la libération de médiateurs inflammatoires comme l'interleukine (IL)-1beta, l'IL-6, le tumour necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ). L'obésité et l'arthrose réduisent la mobilité. Cela peut entraîner un cercle vicieux d'événements : douleurs, réduction de l'activité physique, prise de poids supplémentaire et diminution de la force musculaire, entraînant une augmentation des problèmes articulaires et une progression de la maladie.

#### Surmortalité

Finalement, l'augmentation de l'incidence de l'obésité et des comorbidités associées conduit ainsi à une diminution de l'espérance de vie (Olshansky et al. 2005). On observe une association "en forme de J" entre l'IMC et la mortalité globale (Berrington de Gonzalez et al., 2010). En dehors de la fourchette d'IMC sains, l'espérance de vie est réduite (**Figure 9**). L'espérance de vie fortement réduite pour un IMC supérieur à 30 mais aussi lorsque celui-ci est inférieur à 20. En revanche, les effets du surpoids et de l'insuffisance pondérale sont différents si l'on n'étudie que les morts liés à un cancer ou un évènement cardiovasculaire. Dans ces conditions, l'insuffisance pondérale n'augmente pas le risque relatif de mort. Cependant, le risque relatif est le plus important en situation pour un IMC supérieur à 30 kg/m pour les décès liés à un cancer ou une maladie cardiovasculaire (The global BMI mortality collaboration, 2016; Bhaskaran et al., 2018).



**Figure 9: Relation entre IMC et mortalité**

Risque relatif de mortalité toute cause confondues (A), ou lié à un cancer (B), ou des évènements cardiovasculaires (C) en fonction de l'IMC chez les adultes non-fumeurs. D'après (Bhaskaran et al., 2018).

### Impact économique global de l'obésité et du surpoids

L'obésité apparaît donc comme un véritable fardeau en termes de santé publique et qualité de vie des patients. Tous ces facteurs impactent significativement l'économie. En moyenne, dans les pays de l'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), le surpoids et l'obésité représentent 70 % de tous les coûts de traitement du diabète, 23 % des coûts de traitement des maladies cardiovasculaires et 9 % des cancers. Au sein de l'OCDE environ 8,4 % du budget alloué à la santé est dédié au traitement des maladies liées au surpoids. Le coût global (direct et indirect) du surpoids et de l'obésité reste difficile à quantifier (Tremmel et al., 2017; Nagi et al., 2023). Cependant, on estime, qu'en 2020, l'obésité et le surpoids coutaient à l'économie mondiale 1,96 milliard de dollars américains en valeur constante (World Obesity Atlas 2023). Ces dépenses comprennent à la fois la prise en charge médicale, les coûts de traitements et les conséquences économiques indirectes telles que l'absentéisme, la réduction de la productivité au travail et les départs à la retraite prématurée. Par ailleurs, au vu de l'évolution de la prévalence du surpoids et de l'obésité, on estime que les dépenses liées à leurs prises en charge s'élèveront à 4 milliards de dollars américains en valeur constante d'ici 2035. Chaque année, l'obésité et le surpoids pourraient ainsi réduire le produit intérieur brut (PIB) mondial de 2,9 %. Cet impact serait comparable à la contraction de l'économie mondiale liée à la pandémie de COVID-19 observée en 2019, année durant laquelle le PIB mondial a chuté de 3% (Banque mondiale, 2022).

## Traitements de l'obésité

Les différentes stratégies thérapeutiques dans la prise en charge de l'obésité visent à rééquilibrer la balance énergétique pour induire une perte de poids durable. Les différents traitements de l'obésité reposent sur des approches visant à limiter la charge calorique ingérée, augmenter la dépense énergétique ou jouant à la fois sur ces deux facteurs (Wiechert and Holzapfel, 2021). Elles nécessitent un suivi médical régulier et durable, pour éviter des complications telles que des carences en nutriments ou la reprise de poids. Cependant, l'objectif de la prise en charge de l'obésité ne se limite pas à la perte de poids durable, mais concerne aussi l'amélioration des comorbidités, des facteurs de risque, de la qualité de vie et de la mobilité (**Figure 10**). Par ailleurs, elle doit toujours être individualisée et adaptée au patient (âge, comorbidités associées, investissement possible du patient, objectifs du patient, etc.). Chez les personnes âgées, il conviendra de porter une vigilance particulière sur le risque de sarcopénie, de fragilité et de dénutrition.



**Figure 10: Objectifs de la gestion du poids**

(D'après Wiechert et Holzapfel, 2021)

### Mesures hygiéno-diététiques

La modification des habitudes hygiéno-diététiques fait parties des premières recommandations lors de la prise en charge de l'obésité selon la haute autorité de santé (HAS). De plus, les régimes déséquilibrés ou très restrictifs sont déconseillés car la plupart de ces régimes s'avèrent être peu efficaces à moyen et long terme (Wooley and Garner, 1994). En moyenne, un déficit de 500 kcal/jour peut induire une diminution de 8% du poids de base

au bout de 6 mois (Burke and Wang, 2011). Par ailleurs, des études ont montré que ce n'est pas la composition en macronutriments de l'alimentation, mais la teneur en énergie qui est pertinente pour la gestion du poids (Shai et al., 2008; Sacks et al., 2009; Gardner et al., 2018). Ainsi, il n'existe pas une unique stratégie diététique. Les préférences alimentaires des patients peuvent être prises en compte pour augmenter l'adhésion sur le long terme. En parallèle des mesures diététiques, la lutte contre la sédentarité et l'inactivité physique doit être privilégiée. La pratique régulière d'une activité physique d'endurance d'intensité modérée améliore certaines comorbidités de l'obésité comme le DT2, l'hyperglycémie, la dyslipidémie, ou l'hypertensions artérielle (Colberg et al., 2016).

#### Les chirurgies bariatriques

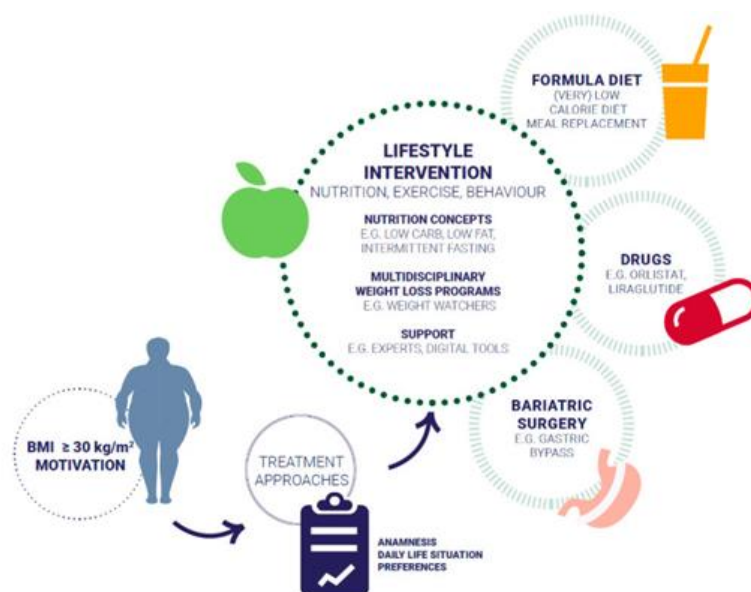
Selon la HAS, la chirurgie bariatrique est un traitement de seconde intention de l'obésité, c'est-à-dire après échec d'un traitement médical, nutritionnel, diététique et psychothérapeutique bien conduit pendant 6-12 mois. Il peut être indiqué pour des patients dont l'IMC est supérieur ou égal à 40 kg/m<sup>2</sup>, ou dont l'IMC est supérieur ou égal à 35 kg/m<sup>2</sup> associé à au moins une comorbidité susceptible d'être améliorée après la chirurgie. En cas de réussite, elle est une aide à une perte de poids importante et persistante. Pourtant cet acte lourd ne doit être réalisé qu'à l'issue d'une décision médicale partagée, avec une information claire sur les techniques existantes, leurs avantages et inconvénients, leurs conséquences, les complications et sur la nécessité d'un suivi médical tout au long de la vie.

#### Traitements pharmacologiques

En dehors de ces mesures comportementales, les traitements médicamenteux ciblant l'obésité sont très limités (**Figure 11**). Plusieurs traitements pharmacologiques anorexigènes ont été développés tandis que d'autres molécules ont fait l'objet de repositionnement thérapeutique. Cependant, ils entraînaient de sérieux effets secondaires, notamment cardiovasculaires (Gardin et al., 2000; Müller et al., 2022). La prise en charge comportementale complétée par un traitement pharmacologique peut induire une perte de poids plus importante (Tak and Lee, 2021). Cependant, en France, l'utilisation de traitement médicamenteux de l'obésité est préconisée en cas d'obésité sévère ou en cas d'échec de la prise en charge nutritionnelle bien conduite. Jusque très récemment, le seul médicament autorisé en France était l'orlistat. Il limite l'absorption intestinale des lipides d'environ 30% par inhibition des lipases gastrique et pancréatique (Padwal and Majumdar, 2007). Son effet sur la perte de poids reste modeste. Cependant, l'orlistat réduit les taux sanguins de

cholestérol et la pression artérielle. Ce traitement diminue aussi le risque de développer un diabète de type 2 (Rucker et al., 2007; Torgerson, 2004).

Il existe d'autres traitements, prescrits contre les comorbidités associées à l'obésité, qui peuvent également induire une perte de poids. Parmi les médicaments anti-diabétiques, les analogues du GLP-1 (Glucagon Like Peptide 1) font l'objet d'un intérêt tout particulier dans la prise en charge de l'obésité. Le liraglutide stimule la sécrétion d'insuline de façon glucose-dépendante, ralentit la vidange gastrique et diminue la sécrétion de glucagon. Le liraglutide induit aussi une perte de poids (Scheen and Van Gaal, 2010). Les mécanismes à l'origine de cette perte de poids ne sont pas bien établis. Cependant, il semble agir sur les régions du cerveau qui régulent l'appétit, en réduisant la sensation de faim. Des données obtenues chez la souris suggèrent également que le liraglutide agit sur le TA blanc, en favorisant le brunissement de ce dernier (Wang et al., 2021; Wang et al., 2023; Zhao et al., 2024). D'autres analogues du GLP-1 semblent également très prometteurs dans la stratégie médicamenteuse de la prise en charge de l'obésité. On peut citer par exemple le sémaglutide, qui a obtenu une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) de cohorte en 2021. Le développement de molécules, agonistes des récepteurs au GLP-1 et au polypeptide insulino-trope dépendant du glucose (GIP) paraît très prometteur, induisant des pertes de poids plus importantes tout en limitant les effets indésirables (Timothy Garvey et al. 2023 ; Cody Stanford, 2023).



**Figure 11: Stratégies de prise en charge de l'obésité**

(D'après Wiechert et Holzapfel, 2021)

Même si les analogues du GLP-1 ouvrent une nouvelle voie dans la prise en charge de l'obésité et diabète, ils ne représentent pas une solution miracle. En effet, la perte de poids lié au liraglutide est associée à un remodelage fibrotique du tissu adipeux avec une augmentation de l'expression génique de marqueurs de la matrice extra-cellulaire et de l'inflammation (Pastel et al., 2017). Par ailleurs, des effets secondaires (nausées, vomissements, douleurs abdominales) liés à l'utilisation de ces molécules subsistent. De plus, certains patients ne répondent pas à ces traitements. Enfin, l'arrêt de traitement médicamenteux est souvent associé à une reprise de poids. Ainsi, il apparaît donc essentiel de poursuivre l'étude de la pathophysiologie de l'obésité et d'explorer d'autres stratégies thérapeutiques.

# L'organe adipeux et sa diversité

Le TA est un organe dynamique, bien connu pour sa fonction de stockage et de mobilisation de l'énergie en fonction de la disponibilité des nutriments et des besoins de l'organisme. Le stockage de l'énergie sous forme de lipides est un mécanisme bien conservé au cours de l'évolution (Kadereit et al., 2008). Ainsi, plusieurs organismes comme la levure, la drosophile ou les rongeurs peuvent être utilisés pour étudier le métabolisme lipidique et mieux comprendre le développement du TA (Parra-Peralbo et al. 2021). Des gènes liés à la synthèse de triglycérides (TG) et à la lipolyse sont présents chez des organismes unicellulaires tels que *Saccharomyces cerevisiae* ou *Candida parapsilosis* (Zweytick et al., 2000; Neugnot et al., 2002 ; Daum et coll., 2007). *C. elegans* stocke également les TG sous forme de gouttelettes lipidiques dans les cellules épithéliales intestinales (Watts, 2009).

## B) Le tissu adipeux blanc

Le TA blanc est divisé en plusieurs dépôts dans l'organisme selon leur fonction (réserve énergétique ou soutien et protection mécanique). Le TA blanc de soutien, ou de protection mécanique est peu sensible aux variations nutritionnelles. Il s'agit d'un tissu conjonctif lâche caractérisé par une abondante matrice extracellulaire. On le retrouve autour des articulations, dans les paumes des mains et au niveau plantaire. Les dépôts adipeux adjacents aux structures squelettiques permettent d'absorber les chocs mécaniques. Le TA blanc situé près de la surface de la peau et de l'intestin détecte et réagit à l'invasion bactérienne, contribuant ainsi à la barrière immunitaire innée du corps

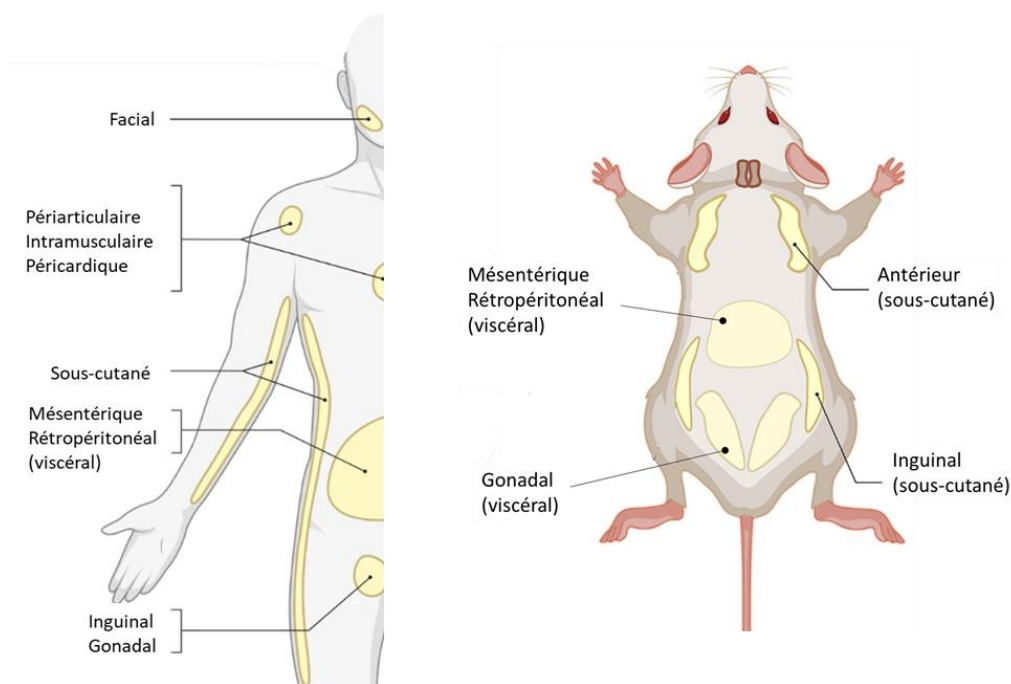
### Distribution anatomique du tissu adipeux blanc

La majorité du TA blanc de l'organisme correspond au tissu de réserve énergétique. Ce tissu est, quant à lui, sensible aux variations nutritionnelles. Au sein de ce tissu de réserve, on distingue le TA blanc sous-cutané (TAsc) et le tissu adipeux blanc viscéral (TAv) qui ont des fonctions distinctes (**Figure 12**).

Le TAsc représente le dépôt adipeux majoritaire de l'organisme, allant jusqu'à 80% du TA d'un individu sain (Zwick et al., 2018). Il s'agit d'une couche de gras située entre les muscles et la peau. On le retrouve au niveau des dépôts abdominaux, des fessiers, des cuisses et de la face (Karastergiou et Fried, 2017). Chez l'homme, la TAv est situé notamment dans la



cavité péritonéale, correspondant aux dépôts omental et mésentérique, en rétropéritonéal (dépôts periaortique et perirénal) et intrapelvien (gonadique et urogenital) (Gesta et al., 2007). Il existe un dimorphisme sexuel concernant le TA. Le TAV est plus présent chez l'homme que chez la femme (10-20% contre 5-10% du TA) (Walker et al., 2014). De façon quasi analogue, la souris et le rat ont des dépôts viscéraux (péri-gonadique, mésentériques et périrénaux) et sous-cutanés (inguinaux et axillaires). Cependant, une différence notable concerne la connexion avec le système circulatoire. Le TAV gonadique murin est relié à la circulation systémique tandis que le TAV humain est connecté à la circulation porte (Rytka et al., 2011).



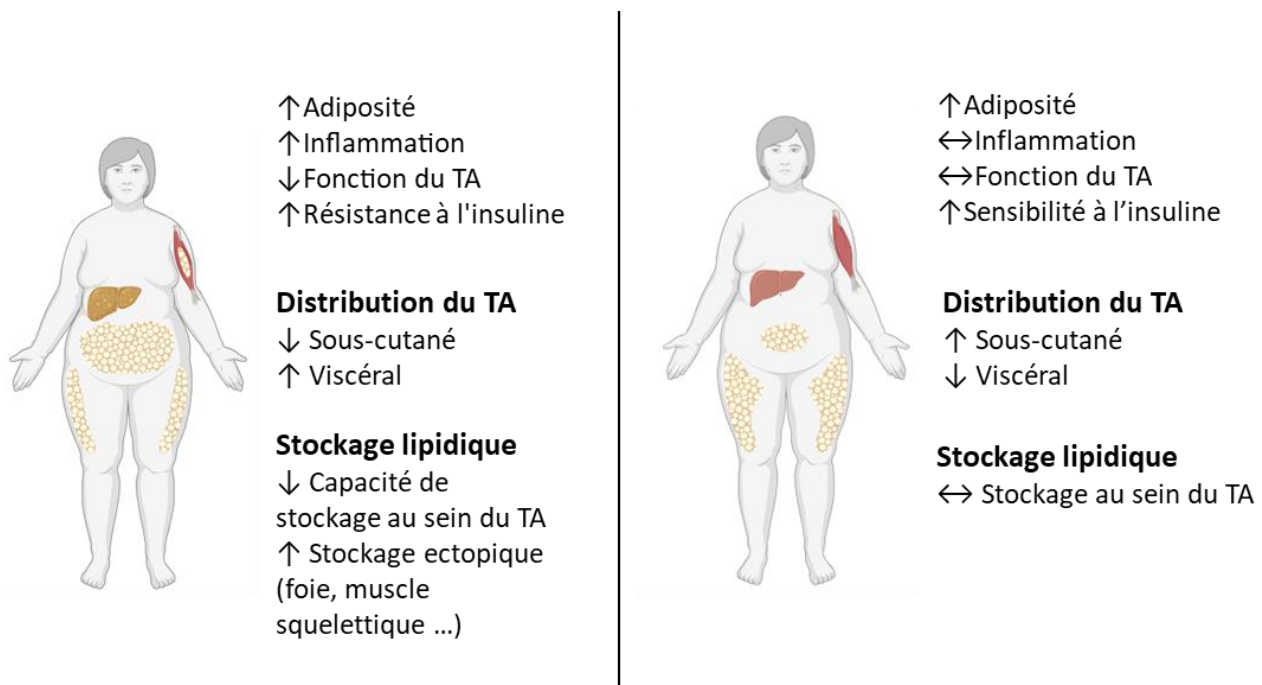
**Figure 12: Distribution anatomique du tissu adipeux blanc chez l'homme et la souris**

Adaptée d'après (Torres Irizarry et al., 2022)

Au-delà d'une répartition variable selon le sexe chez des individus normo-pondérés (Jackson et al., 2002), il existe des différences sexuelles en ce qui concerne les capacités de stockage et d'expansion du TA. Les travaux fondateurs de Jean Vague ont mis évidence ces différences ainsi que leurs conséquences sur la santé à long terme (Vague, 1947). Le TA s'étend préférentiellement au niveau sous-cutané chez les femmes. On parle alors d'obésité gynoïde. Chez les hommes ou les femmes après la ménopause, le TA va plutôt s'accumuler en abdominal au niveau du TAV mésentérique donnant lieu à une obésité dite androïde. Ces différences ne sont pas sans conséquence puisque l'obésité androïde est associée à un risque plus élevé de développer des comorbidités comme la résistance à l'insuline, le DT2

contrairement à une accumulation de TAsc (Jensen, 2008; Masuzaki et al., 2001). En effet, l'accumulation de TAv est caractérisée par une infiltration de cellules immunitaires produisant des cytokines pro-inflammatoires. Certains effets néfastes du TAv sont dus à sa connexion avec le système porte hépatique. Ainsi, les dysfonctions du TAv, notamment au niveau sécrétoire, peuvent directement impacter le foie (Björntorp, 1990; Wajchenberg et al., 2003).

L'accumulation de TAv est associée à l'insulino-résistance et aux dysfonctions hépatiques (Kelley et al., 2000; Smith et al., 2001; Tordjman et al., 2012). L'effet protecteur du TAsc semble être lié à la séquestration de TG en son sein, limitant de fait les taux circulants de TG et améliorant la sensibilité à l'insuline (Mittal, 2019; Porter et al., 2009).



**Figure 13: Conséquences métaboliques de la distribution du TA**

L'accumulation de TA au niveau viscéral est plus délétère et plus limitée qu'au niveau sous-cutané, augmentant ainsi l'inflammation, la résistance à l'insuline du TA et aussi dans les organes périphériques en lien avec l'augmentation du stockage ectopique de lipides.

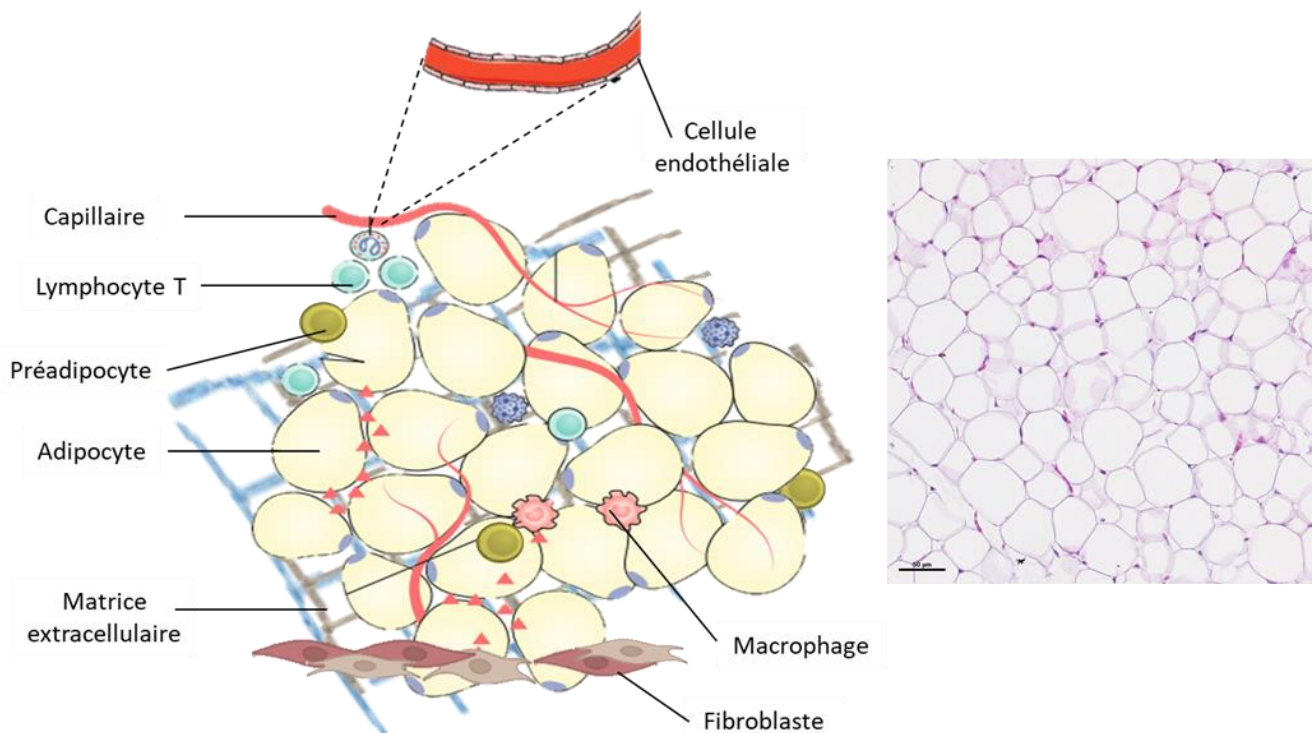
Le métabolisme des adipocytes, mais aussi la composition en cellules immunitaires, de ces 2 types de TA blanc divergent. Le TAv contient plus de cellules immunitaires que le TAsc et sécrète plus de cytokines pro-inflammatoires, comme l'interleukine-6 (Il-6) ou le Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) (Hamdy et al., 2006). De plus, les adipocytes du TAv sont plus sensibles à la lipolyse et moins sensibles à l'insuline que ceux du TAsc. De ce fait, le TAv possède une plus grande capacité à libérer des acides gras (AG) libres (Einstein et al., 2005).

Aussi, les adipocytes du TAV sécrètent moins d'adiponectine et sont moins sensibles au brunissement. Ces différences dans l'interaction de toutes les cellules composant les différents dépôts de TA peuvent aboutir à une obésité dite "métaboliquement saine" (**Figure 13**). Dans ce cas, l'accumulation de TA n'est pas associée à des complications métaboliques (Blüher, 2020 ; Zhao et al., 2024).

### Composition cellulaire du TA blanc

La fraction stroma-vasculaire

Au niveau histologique, les adipocytes matures représentent le type cellulaire majoritaire du TA. Cependant, ce dernier contient de nombreux autres types cellulaires au sein de sa fraction stroma-vasculaire (FSV). La FSV est un mélange hétérogène contenant toutes les cellules non adipocytaires, que l'on peut séparer des adipocytes matures par centrifugation après la digestion des tissus. Les cellules de la FSV dialoguent avec les adipocytes matures et sont impliquées dans la régulation de l'homéostasie du TA, l'expansion du tissu ou encore la sécrétion d'adipokines.



**Figure 14: Le tissu adipeux blanc et sa diversité cellulaire**

Même si les adipocytes semblent être prédominants au niveau histologique, le TA contient de nombreux autres types cellulaires, des cellules immunitaires (majoritairement des macrophages et les lymphocytes), des cellules endothéliales et des progéniteurs adipocytaires.

Les progéniteurs adipocytaires

Les adipocytes matures ne sont pas capables de division. Ainsi, pour maintenir l'homéostasie du tissu, les nouveaux adipocytes sont issus de la différenciation de progéniteurs au sein de ce tissu. On estime que ce renouvellement des adipocytes est d'environ 10% chaque année chez l'homme à l'âge adulte (Spalding et al., 2008). De même, l'expansion du tissu en situation de surplus calorique sur le long terme, repose, en partie, sur la différenciation des progéniteurs. Ce pourcentage de renouvellement semble cependant être similaire chez les personnes en situation d'obésité, lorsqu'il est normalisé par le nombre d'adipocytes.

Au sein de la FSV, on retrouve des cellules dotées de multipotence capables de proliférer et se différencier en plusieurs types cellulaires, ainsi que des fibroblastes déjà engagés dans le lignage adipocytaire, les préadipocytes. Ces derniers sont définis par l'expression du facteur 1 pré-adipocytaire (Pref-1). Son expression est par la suite perdue avec la différenciation adipocytaire. Par ailleurs, les préadipocytes expriment déjà certains marqueurs associés à l'adipocyte (Sul et al., 2000).

Les cellules multipotentes du TA sont assimilées à des cellules souches mésenchymateuses (Pittenger et al., 1999). Elles peuvent se différencier en chondrocytes, ostéoblastes et adipocytes (Baer, 2014; Rodriguez et al., 2005; Zuk et al., 2002). L'analyse des marqueurs de surface a permis de mieux caractériser ces cellules souches du TA (Rodeheffer et al., 2008). Elles ont été définies par l'absence d'expression des marqueurs des cellules hématopoïétiques et endothéliales (c'est-à-dire CD45- et CD31-, ou « Lin- ») et de leur expression sélective de CD29, CD34, LY6A/Sca1 et CD24. Une fois isolé, cette population cellulaire est capable de se différencier en adipocyte *in vitro* et *in vivo*. En effet, la transplantation de ces cellules chez des souris lipodystrophiques permet la régénération du TA, de normaliser le diabète associé à la lipodystrophie et de rétablir une fonction normale du TA (Rodeheffer et al., 2008).

L'identification d'autres marqueurs ainsi que la localisation précise des progéniteurs restent plus discutées. En effet, des études ont identifié une population de progéniteurs adipocytaires exprimant le récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxysomes (peroxisome proliferator-activated gamma receptor, PPAR $\gamma$ ) résidant le long des vaisseaux sanguins dans le TA blanc. Ces dernières expriment le marqueur mural (des cellules de paroi du vaisseau) Pdgfr $\beta$  (Tang et al., 2008). Des expériences de traçage de lignées ont montré

que les cellules exprimant Pdgfr $\beta$  génèrent de nouveaux adipocytes dans le TA blanc épидидymaire en conditions obésogènes, contribuant à 10 % à 30 % du total des adipocytes dans ce dépôt (Gao et al., 2018 ; Vishvanath et al., 2016). Cependant, utiliser PDGFR $\beta$  pour identifier les progéniteurs adipocytaires entraîne l'inclusion de nombreux types de cellules non périvasculaires. De plus, les fibroblastes adventifs co-expriment PDGFR $\beta$  et PDGFR $\alpha$  (Cattaneo et al., 2020 ; Hong et al., 2015 ; Vishvanath et al., 2016).

PDGFR $\alpha$  a été identifié pour la première fois comme un marqueur des cellules adipogéniques dans le muscle en régénération (Joe et al., 2010 ; Uezumi et al., 2010). De nombreuses études réalisées par des groupes distincts employant différents rapporteurs de la lignée Pdgfr $\alpha$ -Cre, ont démontré systématiquement le traçage des cellules PDGFR $\alpha$ + dans les adipocytes dans le TAsc et le TAv (Berry et al., 2014 ; Cattaneo et al., 2020 ; Han et al., 2021 ; Sun et al., 2020). Pris ensemble, ces résultats suggèrent que les fibroblastes adventitiels PDGFR $\alpha$ + ( $\pm$ PDGFR $\beta$ ), plutôt que les cellules murales, sont la principale source de nouveaux adipocytes dans le TAbanc. Par ailleurs, la modulation des niveaux de PDGFR $\alpha$  des progéniteurs adipocytaires semble aussi importante en condition pathophysiologique (Marcelin et al., 2017). Il existe en effet des sous-populations de progéniteurs exprimant à la fois PDGFR $\alpha$ + et CD9 à un faible niveau (PDGFR $\alpha$ +, CD9<sup>low</sup>) impliqués dans la formation d'adipocytes. Au contraire, les progéniteurs PDGFR $\alpha$ + et CD9<sup>high</sup> sont impliqués dans la production de matrice extracellulaire, favorisant la fibrose du TA. Au cours de l'obésité, le microenvironnement trophique et inflammatoire est ainsi capable de moduler la distribution et l'activation des progéniteurs participant ainsi au remodelage actif du TA.

Les cellules endothéliales

Les cellules vasculaires du TA constituent une barrière sélective entre le compartiment sanguin et les cellules au sein du TA. Ce réseau vasculaire est composé de cellules musculaires lisses, de péricytes et de cellules endothéliales. Les péricytes sont spécialisés dans la régulation et le maintien des fonctions vasculaires (Imhof and Aurrand-Lions, 2006). Les cellules endothéliales du TA jouent un rôle majeur dans le contrôle des échanges trophiques (nutriments, AG, ...), d'hormones, de médiateurs inflammatoires, d'oxygène et même de cellules immunitaires (Villaret et al., 2011). La sélection des marqueurs de surface permet également d'identifier les cellules endothéliales du TA. Elles sont caractérisées par l'expression de CD34 et CD31. L'adipogenèse et l'angiogenèse sont deux mécanismes

interdépendants. En effet, lorsque le TA s'étend, les adipocytes produisent de nombreux facteurs angiogéniques afin de stimuler la formation de nouveaux vaisseaux (leptine, Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), ...) (Cao, 2007). Les cellules endothéliales des vaisseaux nouvellement formés pouvant ainsi favoriser la migration et la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures (Crandall et al., 2000; Hutley et al., 2001; Lijnen, 2008; Varzaneh et al., 1994). Aussi, l'inhibition de la signalisation du VEGF par des anticorps neutralisant anti-VEGFR2 inhibe non seulement l'angiogenèse mais aussi l'adipogenèse (Fukumura et al., 2003). Comme pour le renouvellement adipocytaire qui était le même chez les personnes en situation d'obésité, il a été montré que le pourcentage de cellules endothéliales dans la FSV n'était pas corrélé à l'IMC (Miranville et al., 2004). Cependant, l'expansion pathologique du TA est associée à une altération de l'angiogenèse. Une moindre angiogenèse étant elle-même corrélée à l'inflammation du TA et à la résistance à l'insuline (Lijnen, 2008; Nijhawans et al., 2020). En situation d'obésité, le nombre de capillaires sanguins diminue réduisant de fait les échanges gazeux et trophique. En conséquence, on observe une hypoxie du TA chez les personnes en situation d'obésité favorisant la mort cellulaire, la dysfonction et l'inflammation de ce tissu (Pasarica et al., 2009).

#### Les cellules immunitaires

Au sein du TA blanc, les cellules immunitaires peuvent représenter jusqu'à 40% des cellules de la FSV principalement sous forme des macrophages et des lymphocytes. Des macrophages sont présents dans le TA sans stimulation inflammatoire, on parle de macrophages résidents. En condition physiologique, ces macrophages participent à la surveillance immunitaire, et phagocytent les éventuels agents pathogènes et plus fréquemment les débris cellulaires. Les macrophages de type M2 représentent environ 10% de la FSV du TA blanc chez les individus normo-pondérés. Cependant, l'obésité augmente considérablement le nombre de macrophages du TA, aussi bien chez l'homme que chez les rongeurs (Harman-Boehm et al., 2007; Weisberg et al., 2003). Durant l'obésité, un changement phénotypique dans les macrophages du TA s'opère, passant d'un profil anti-inflammatoire de type M2 à un état pro-inflammatoire de type M1» (Lumeng et al., 2007, 2008 ; Nguyen et al., 2007). Ces macrophages de type M1 représentent une source majeure de cytokines pro-inflammatoires et peuvent être trouvés autour des adipocytes morts ou mourants dans le tissu adipeux, formant des structures caractéristiques en forme de

couronne (crown-like structure, CLS). Cette augmentation s'accompagne de l'activation de plusieurs voies inflammatoires (Amano et al., 2014 ; Patsouris et al., 2008). L'ablation des macrophages pro-inflammatoires chez les souris obèses diminue l'inflammation du TA et augmente la sensibilité à l'insuline (Patsouris et al., 2008). En effet, les macrophages M1 sécrètent des cytokines pro-inflammatoires qui inhibent la signalisation insulinique (Osborn et Olefsky, 2012). De même, la réduction du recrutement des macrophages dans le TA blanc améliore les complications métaboliques chez les souris nourries avec un régime obésogène (Kanda et al., 2006 ; Weisberg et al., 2006). Au-delà de son rôle essentiel dans l'adipogenèse, PPAR $\gamma$  semble également impliqué dans la polarisation des macrophages. En effet, la rosiglitazone, un activateur de PPAR $\gamma$ , augmente l'infiltration de macrophages M2 dans le TA blanc chez les souris recevant un régime riche en graisse (Stienstra et al., 2008 ; Fujisaka et al., 2009). Aussi, la délétion de PPAR $\gamma$  dans les macrophages favorise la prédominance des macrophages M1 et la diminution des macrophages M2 dans le TA durant l'obésité (Odegaard et al., 2007 ; Bassaganya-Riera et al., 2009).

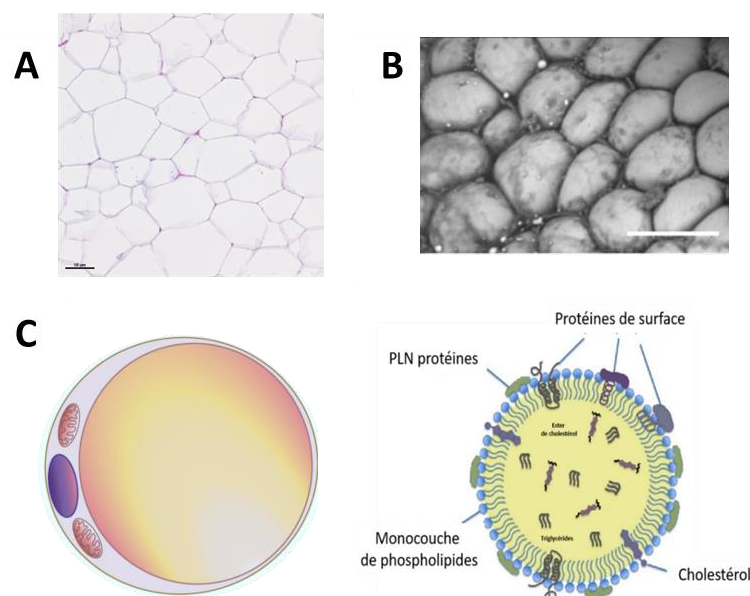
Les progéniteurs de PDGFR $\alpha$  se concentrent sur les sites de clairance des adipocytes morts (CLS), où ils prolifèrent et se différencient en adipocytes, attirés par les macrophages M2. (Lee et al., 2013). Ce recrutement et cette différenciation sont retrouvés dans plusieurs situations, notamment après une alimentation riche en graisses ou à la suite de lésions tissulaires. Ce dialogue entre progéniteurs et macrophages souligne encore l'interdépendance des différents types cellulaires au sein du TA.

Cette polarisation M1/M2 des macrophages a depuis été affinée, notamment grâce à l'avancée des techniques de séquençage sur cellule unique, et des localisations des sous-populations identifiées. On peut notamment citer les macrophages activés métaboliquement (metabolically activated macrophages, MMe). Ce sous-type de macrophage est produit en réponse à des niveaux élevés de glucose, d'insuline et de palmitate. Plutôt que d'exprimer les marqueurs M1 classiques, les MMe surexprime le transporteur de cassette de liaison à l'ATP (ABCA1), le cluster de différenciation 36 (CD36) et la périlipine 2 (PLIN2), qui sont régulés par PPAR $\gamma$  (Kratz et al., 2014). De plus, les macrophages MMe s'accumulent au niveau des CLS, et peuvent présenter des effets à la fois bénéfiques et néfastes lors d'une obésité induite par le régime (Coats et al., 2017). Par exemple, au cours des premiers stades de l'obésité induite par le régime, les macrophages

MME augmentent l'inflammation du tissu adipeux via l'induction des marqueurs inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$ , ainsi que des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides, favorisant l'inflammation du TA et une diminution de la tolérance au glucose. En revanche, à des stades plus tardifs, ils sont plus actifs dans la clairance des adipocytes morts via leur activité lysosomale, inhibant ainsi l'accumulation de graisse ectopique et la résistance à l'insuline dans l'obésité induite par le régime.

### L'adipocyte blanc mature

Comme vu précédemment, l'adipocyte blanc mature est loin d'être le seul type cellulaire au sein du TA. Cependant, du point de vue histologique, il est le plus notable. En effet, plus de 90% du volume de l'adipocyte est constitué d'une unique vacuole lipidique (Le Lay et al., 2015). Le reste de la cellule est composé d'un noyau en périphérie proche de la membrane plasmique, de quelques mitochondries et autres organites contenues dans un cytoplasme mince. Les lipides de la gouttelette sont stockés sous la forme d'AG estérifiés sur un squelette de glycérol, formant ainsi des TG. La vacuole lipidique contient aussi des esters de cholestérol. Elle est aussi entourée d'une monocouche de phospholipides et de protéines comme les périlipines, qui protègent les lipides de l'hydrolyse par les lipases (lipolyse) dans des conditions basales. La taille de l'adipocyte blanc mature varie donc en fonction des besoins physiologiques, allant de 20 à 300  $\mu\text{m}$  de diamètre (Fujimoto et Parton, 2011; Stenkula et al., 2018 Sztalryd and Kimmel, 2014).



***Figure 15: L'adipocyte blanc***

TA blanc de souris en coloration Hématoxyline/Eosine (A), en microscopie électronique à balayage (B), et représentations schématiques de l'adipocyte blanc. Echelle 50  $\mu\text{m}$ . D'après (Cinti, 2018).



## L'adipogenèse blanche

La formation d'adipocyte blanc mature est un processus réalisé en plusieurs étapes, finement régulées au niveau transcriptionnel, grâce à divers facteurs environnementaux. Dans un premier temps, les cellules souches mésenchymateuses deviennent des préadipocytes en perdant leur capacité de multipotence pour ne conserver qu'un seul devenir. Les préadipocytes vont par la suite se préparer à la différenciation adipocytaire durant l'engagement avant de réellement pouvoir se différencier en adipocyte mature. L'étude de l'adipogenèse est complexe, repose sur le traçage *in vivo* ou la différenciation *in vitro* de fibroblastes immortalisés comme les cellules 3T3-L1 et 3T3-F442A (Russell and Ho, 1976).

### BMP

Comme Certaines Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) comme BMP2 et BMP4 sont nécessaires à l'engagement adipocytaire (Wang et al., 1993; Bowers et al., 2006). Les BMPs agissent via leur liaison à leur récepteur pour activer le facteur de transcription Small Mother Against Decapentaplegic (SMAD4) qui est actif avec ses partenaires SMAD1, SMAD5 et SMAD8 (Huang et al., 2009). SMAD4 ainsi activé est alors capable de favoriser la différenciation terminale en stimulant la transcription de gène possédant des éléments de réponse aux SMADs dans leur promoteur (Massague et al., 2005). De plus, la transcription de PPAR $\gamma$  est aussi augmentée grâce aux BMPs et aux SMADs via l'activation de la p38MAPK (Hata et al., 2003).

### ZFP423

La protéine ZFP423, qui possède un domaine à doigt de zinc, joue un rôle essentiel dans l'engagement adipocytaire. Ce facteur de transcription est enrichi dans les fibroblastes adipogéniques, où il agit pour potentialiser la signalisation BMP pro-adipogénique. *In vitro*, la délétion de ZFP423 empêche la différenciation adipocytaire des fibroblastes 3T3-L1. De plus, chez les souris, la délétion du gène codant cette protéine induit une diminution de l'adipogenèse blanche et brune (Gupta et al., 2010). De plus, ZFP423 maintient l'identité adipocytaire blanche en supprimant le programme de gènes thermogéniques des cellules beiges (Shao et al., 2016). Par ailleurs, l'hypothyroïdie est associée à une augmentation du pourcentage de TA et une augmentation des niveaux de ZFP423 dans le TA blanc (Weiner et al., 2016). La liaison de la T3 module de façon négative la transcription de ZFP423 (Roth et al., 2023).

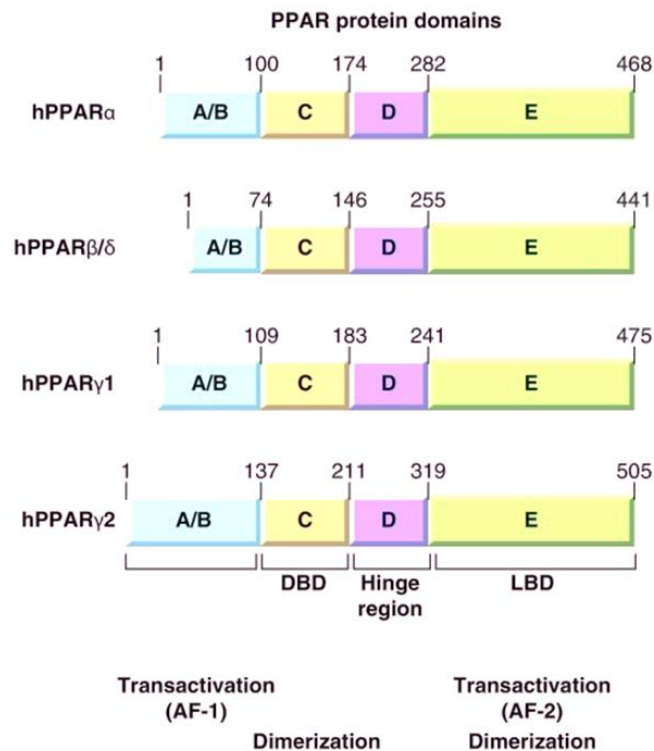
## PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  est l'un des principaux régulateurs de l'adipogenèse. Les PPARs appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires. Que ce soit dans le TA brun ou le TA blanc, PPAR $\gamma$  est essentiel à l'adipogenèse. En effet, les souris invalidées pour PPAR $\gamma$  meurent *in utero* à E10 (Barak et al., 1999) rendant complexe l'étude de ce facteur de transcription. Sa délétion spécifiquement dans les adipocytes matures entraîne une lipodystrophie, affectant le TA blanc et le TA brun. Selon les études, ce dernier est réduit voire quasi absent (He et al., 2003; Imai et al., 2004). La lipodystrophie peut être accompagnée d'une insulino-résistance et d'une augmentation de dépôts ectopique de lipides dans le foie. La délétion inducible de PPAR $\gamma$  sous le contrôle du promoteur de l'adiponectine et de l'activité de la recombinaison CRE ERT2 confirme que PPAR $\gamma$  est nécessaire à la survie des adipocytes blancs et bruns matures (Imai et al., 2004). De même, la délétion spécifique de PPAR $\gamma$ 2 induit également une lipodystrophie dans le TA blanc et le TA brun associée à une insulino-résistance (Jones et al., 2005). La différenciation *in vitro* de cellules de la FSV de souris PPAR $\gamma$ 2  $-/-$  est également réduite confirmant le rôle essentiel de PPAR $\gamma$  dans l'adipogenèse.

Les PPARs sont des facteurs de transcription régulant l'expression de gènes cibles possédant, dans leur promoteur, un site PPAR Response Element (PPRE), sur lequel les PPARs se lient grâce à leurs motifs en doigts de zinc et en hétérodimère avec le facteur de transcription RXR. Ces récepteurs nucléaires ont été nommés ainsi car leur activation induit la prolifération des peroxyosomes dans le foie (Issemann and Green, 1990). Trois isotypes ont été identifiés. Il s'agit de PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta/\delta$  (NR1C2), et PPAR $\gamma$  (NR1C3). Ils régulent l'expression de divers gènes impliqués dans le métabolisme lipidique selon leur distribution tissulaire.

Au niveau de leur structure, les PPARs partagent de nombreuses similarités. Ils sont composés de plusieurs domaines fonctionnels, notés A/B (côté N-terminal) à E/F (côté C-terminal) : un domaine A/B qui possède un domaine de transactivation ligand-dépendant AF-1 (Activation Function-1 motif), un domaine C très conservé permettant la fixation à l'ADN du promoteur des gènes cibles, au niveau du DBD (DNA Binding Domain), un domaine D ou « domaine » charnière qui joue un rôle conformationnel dans la régulation de cofacteurs et un domaine E contenant le domaine de fixation du ligand ou LBD (Ligand

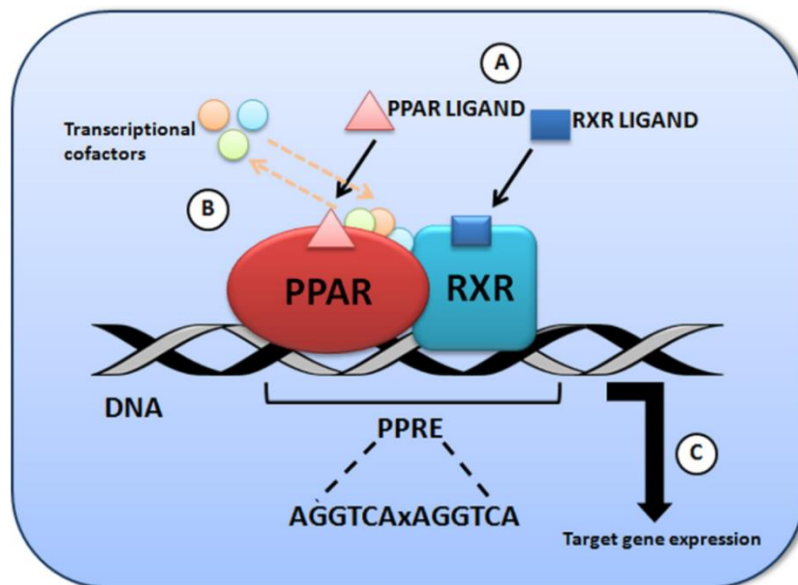
Binding Domain). Le LBD contient aussi le domaine de transactivation ligand-dépendant AF-2 qui lie les corégulateurs (**Figure 16**).



**Figure 16: Les trois isotypes des PPARs**

PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  et PPAR $\gamma$  partagent la même structure divisée en quatre domaines D'après (Han et al., 2017).

Au sein du DBD se trouve une structure en doigt de zinc capable de reconnaître une séquence de six nucléotides sur le promoteur des gènes cibles. Les PPARs se lient à un partenaire, le récepteur de l'acide 9-cis rétinolique (RXR). Il existe 3 types de RXR, nommés RXR $\alpha$ , RXR $\beta$  et RXR $\gamma$  (Shulman et al., 2004; Gearing et al., 1993; Mangelsdorf et al., 1992). L'hétérodimère PPAR/RXR reconnaît, au niveau de l'ADN, un Peroxisome Proliferator Responsive Element (PPRE), élément de réponse fonctionnel (Wahli et al., 1995). Il s'agit de deux séquences de six nucléotides (AGGTCA) répétées et séparées par un seul nucléotide. On parle de séquence DR-1 (direct repeat 1) (**Figure 17**). Les PPARs se lient au premier motif hexamérique via le DBD alors que la deuxième séquence est reconnue par le RXR (A et al., 1997; Chandra et al., 2008).



**Figure 17: Activation transcriptionnelle par les PPARs**

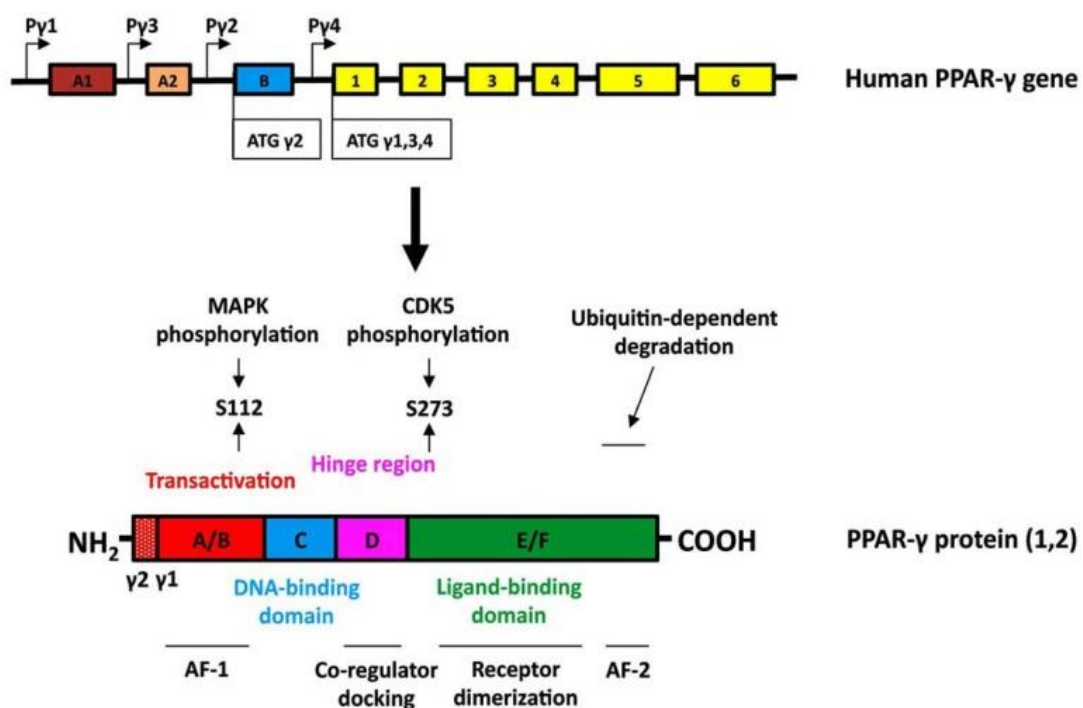
Activation transcriptionnelle des PPARs au niveau nucléaire. Liaison des ligands sur l'hétérodimère PPAR/RXR (A); Changements conformationnels et assemblages des cofacteurs transcriptionnels associés (B); Activation du complexe transcriptionnel des gènes cibles (C). D'après (Rigano et al., 2017).

La régulation transcriptionnelle des gènes cibles des PPARs est médiée par l'hétérodimérisation entre PPAR et RXR. Mais elle est aussi modulée par le recrutement de divers cofacteurs. Ce complexe protéique va pouvoir modifier l'accès à la chromatine, le recrutement de l'ARN polymérase II pour réguler la transcription de façon positive ou négative (Spiegelman and Heinrich, 2004). Par ailleurs, les PPARs peuvent directement subir des modifications post-traductionnelles. Par exemple, la sérine 273 de PPAR $\gamma$  peut être phosphorylée par Cdk5 (cyclin-dependent kinase 5) et ERK (Extracellular signal-regulated kinase) dans le TA de souris obèses et diabétiques (Banks et al., 2015; Choi et al., 2014). Les agonistes de PPAR $\gamma$  inhibent sa phosphorylation par Cdk5 et ERK chez les souris (Choi et al., 2011). Aussi, les PPARs peuvent être impliqués dans un contrôle négatif de la transcription via une transrépression au lieu d'une transactivation. Enfin, les PPARs peuvent inhiber la transcription par leur interaction et donc la séquestration d'autres facteurs de transcriptions. Cette transrépression participe notamment aux effets anti-inflammatoires des PPARs (Alvarez-Guardia, et al., 2011 ; Vázquez-Carrera et Wahli., 2022).

Ils existent deux isoformes de PPAR $\gamma$  (**Figure 18**). PPAR $\gamma$ 1 et PPAR $\gamma$ 2, qui sont synthétisées en fonction d'un épissage alternatif et de l'utilisation différentielle de promoteurs. Le transcrit de PPAR $\gamma$ 2 est plus long de 90 nucléotides, soit 30 acides aminés supplémentaires à

son extrémité N terminale au niveau protéique (Zhu et al., 1995; Fajas et al., 1997). PPAR $\gamma$ 1 est exprimé dans de nombreux tissus. En revanche, l'expression de PPAR $\gamma$ 2 est limitée TA dans des conditions physiologiques.

PPAR $\gamma$ 1 et PPAR $\gamma$ 2 sont fortement induits au cours de l'adipogenèse mais selon des cinétiques différentes. Durant l'adipogenèse de préadipocytes blancs de souris (3T3-L1), l'induction de PPAR $\gamma$ 1 est plus précoce que celle de PPAR $\gamma$ 2, mais l'expression des deux isoformes reste similaire dans la phase tardive de différenciation (Jitrapakdee et al., 2005). De plus l'expression ectopique de PPAR $\gamma$ 2 est capable d'induire le stockage d'AG et l'adipogenèse hors du TA (Tontonoz et al., 1994) dans le foie ou les muscles. L'obésité peut induire l'expression de PPAR $\gamma$ 2 hors du TA (Medina-Gomez et al., 2005). Au contraire, les souris PPAR $\gamma$ 2-KO développent une résistance à l'insuline des muscles squelettiques (Virtue et al., 2018).



**Figure 18: La structure de PPAR $\gamma$**

PPARG peut être transcrits différemment selon deux codons ATG initiateurs. Au niveau protéique, PPARG contient de plusieurs domaines fonctionnels. Un domaine A/B qui possède un domaine de transactivation ligand-dépendant AF-1 (Activation Function-1 motif), un domaine C comprenant le domaine de fixation à l'ADN nommé DBD (DNA Binding Domain), un domaine D permettant une adaptation conformationnelle, un domaine E/F contenant le domaine de fixation du ligand nommé. Le LBD (Ligand Binding Domain). Le LBD contient aussi le domaine de transactivation ligand-dépendant AF-2 qui lie les corégulateurs. L'activité de PPARG peut être modulée de façon post-traductionnelle, notamment par phosphorylation des sérines 112 ou 273. D'après (Wei et al., 2012).

Les PPARs sont parfois considérés comme des senseurs lipidiques car leurs ligands endogènes sont de nature lipidique. Les acides gras, surtout les acides gras polyinsaturés comme pourraient être des ligands endogènes de PPAR $\gamma$  à des concentrations de l'ordre du micromolaire (Dussault and Forman, 2000; Xu et al., 1999). Des métabolites dérivés des prostaglandines tels que la 15-desoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J2 (15d-PGJ2) ont été identifiés comme des agonistes des PPAR $\gamma$  induisant l'adipogenèse (Forman et al., 1995; Kliewer et al., 1995). Cependant, *in vivo*, les niveaux physiologiques de 15d-PGJ2 pourraient être insuffisants pour activer PPAR $\gamma$ . Le 9- et 13- Hydroxyoctadécadiénoïque (HODE, 18 carbones) sont également des dérivés oxygénés par les lipoxygénases, décrits comme des ligands de PPAR $\gamma$  (Nagy et al., 1998).

Les ligands des PPARs, endogènes et actifs à des concentrations physiologiques sont donc peu connus. En revanche, des ligands synthétiques et actifs à de plus faibles concentrations sont bien décrits. Les thiazolidinediones (TZD) sont les principaux agonistes synthétiques de PPAR $\gamma$ , utilisés dès le début des années 1990. Ils sont capables d'augmenter la sensibilité à l'insuline et de réduire la glycémie chez les patients atteints de DT2. Parmi les TZD, on retrouve notamment la troglitazone, la pioglitazone et la rosiglitazone. Leur forte affinité pour PPAR $\gamma$  ne fut décrite qu'en 1995 (Lehmann et al., 1995). Dans les années 2000, l'utilisation thérapeutique des TZD a diminué en raison d'études soulignant leurs effets secondaires : problèmes cardiaques, retenue d'eau, gain de poids par activation de l'adipogenèse, douleurs des membres inférieurs et fractures. Depuis, certaines de ces molécules ne sont plus utilisées notamment en Europe. Notons tout de même que les TZD restent prescrites dans la prise en charge du DT2 aux Etats-Unis, dans près de 10% des cas (Arnold et al., 2019).

Les TZD restent cependant largement utilisés en recherche en tant qu'agoniste spécifique de PPAR $\gamma$ . La rosiglitazone améliore la tolérance au glucose chez la souris délétée pour PPAR $\gamma$ 1 uniquement et chez la souris délétée pour PPAR $\gamma$ 2 uniquement suggérant une certaine redondance entre  $\gamma$ 1 et  $\gamma$ 2. Cependant, en comparaison de la souris contrôle également traitée à la rosiglitazone, l'amélioration de la tolérance au glucose n'est retrouvée que chez la souris  $\gamma$ 1 KO suggérant que l'isoforme  $\gamma$ 2 pourrait être un médiateur plus puissant de l'effet antidiabétique de la rosiglitazone (Hu et al., 2022).

## C/EBP

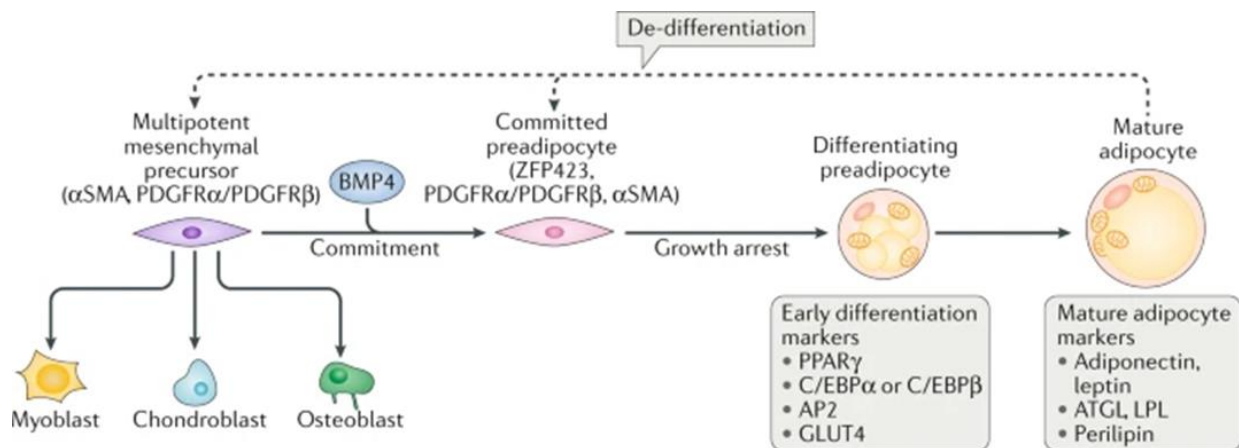
En plus de PPAR $\gamma$ , l'activation des facteurs de transcription CCAAT enhancer binding protein (C/EBP) est essentielle à l'adipogénèse. Ils forment des homo- ou hétérodimères via leur domaine leucine zipper et se lient aux régions régulatrices des gènes possédant une séquence CCAAT. L'expression de C/EBP $\beta$  est induite par l'augmentation d'Adénosine MonoPhosphate cyclique (AMPC) dans les pré-adipocytes (Cao et al., 1991; Zhang et al., 2004). C/EBP $\beta$  et C/EBP $\delta$  sont induits de façon très précoce mais transitoire au début de l'adipogénèse (Rosen et MacDougald, 2006). La génération de souris invalidées pour C/EBP $\beta$  et/ou C/EBP $\delta$  induit une importante mortalité à la naissance ainsi qu'une lipodystrophie caractérisée par une absence quasi-complète de TA (Tanaka et al., 1997). L'adipogénèse embryonnaire ne dépend pas spécifiquement de C/EBP $\alpha$ , probablement parce que C/EBP $\beta$  partage une certaine redondance fonctionnelle avec C/EBP $\alpha$ . Cette redondance est cependant limitée à l'embryon, car C/EBP $\alpha$  est requis pour toutes les formes d'adipogénèse chez l'adulte (Wang et al., 2015). De plus, l'expression de C/EBP $\alpha$  est induite plus tardivement lors de l'adipogénèse blanche. Des éléments de réponses aux C/EBPs (CRE, C/EBP Response element) sont présents sur les promoteurs de C/EBP $\alpha$  et PPAR $\gamma$ . Ainsi, ces deux facteurs de transcriptions maintiennent mutuellement leur expression au niveau transcriptionnel au cours de l'adipogénèse tardive (Lefterova et al., 2008).

Les changements transcriptionnels de l'adipogénèse précoce permettent l'expression de gènes adipogéniques comme la Fatty Acid Binding Protein 4 (FABP4), la Fatty Acid synthase (FASN) ou le transporteur de glucose 4 (GLUT4). Par la suite, le maintien de l'expression de C/EBP $\alpha$  et PPAR $\gamma$  permet l'expression des marqueurs d'adipocytes matures comme l'adiponectine, la leptine, la périlipine 1 (PLIN1) ou l'adipose triglyceride lipase (ATGL). A ce stade, l'adipocyte est fonctionnel, capable de stocker l'énergie et de synthétiser les TG mais aussi de les mobiliser et de sécréter diverses adipokines.

## Insuline et glucocorticoïdes

L'insuline est également un signal essentiel à la différenciation adipocytaire. La perturbation de la cascade de signalisation de l'insuline, comme le récepteur de l'insuline (Accili et al., 1991) ou la Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) (Tomiyama et al., 1995) empêche l'adipogénèse *in vitro*. De même, les glucocorticoïdes sont des hormones stéroïdes adipogéniques agissant via leur récepteur spécifiques (Chapman et al., 1985). Dans les préadipocytes, les glucocorticoïdes facilitent l'arrêt de la prolifération nécessaire à l'adipogénèse (Shugart et

al., 1997). Ils régulent également l'expression des C/EBPs. De plus, le traitement avec des glucocorticoïdes sensibilise les préadipocytes aux effets adipogéniques de l'insuline (Tomlinson et al., 2010). In vivo, les niveaux de glucocorticoïdes sont soumis à un rythme circadien. Chez les personnes en bonne santé, les glucocorticoïdes plasmatiques atteignent un pic peu de temps après le réveil et chutent tout au long de la journée, tandis que chez les personnes obèses ou diabétiques, les taux élevés de glucocorticoïdes plasmatiques persistent favorisant l'adipogenèse (Weitzman et al., 1971; Hackett et al., 2014).



**Figure 19: L'adipogenèse blanche**

Les adipocytes sont issus de cellules fibroblastiques mésenchymateuses multipotentes. Ces précurseurs peuvent également se différencier en myoblastes, chondroblastes ou osteoblastes. La signalisation des bone morphogenetic proteins (BMP) notamment BMP4 restreint le devenir de ces progéniteurs à la lignée adipocytaire dans le cadre d'un processus appelé « engagement ». Au moment de l'engagement, les précurseurs expriment le facteur de transcription ZFP423. Lorsque le préadipocyte engagé arrête sa prolifération, PPARγ, C/EBPα et C/EBPβ sont activés permettant la différenciation précoce et l'accumulation de lipides. Il est maintenant prouvé que les adipocytes matures peuvent subir une dédifférenciation. D'après (Ghaben et Scherer, 2019).

Plusieurs protéines viennent moduler l'expression et l'activité de PPARγ et des C/EBPs. On peut citer les protéines de famille des Kruppel-like factor (KLFs). KLF5 agit comme un co-activateur de C/EBPβ, ce qui améliore ensuite la transcription de PPARγ et C/EBPα (Oishi et al., 2005). KLF6 est aussi adipogénique en inhibant l'expression de Pref-1 (Li et al., 2005). En revanche, GATA2 et GATA3 inhibent l'adipogenèse des préadipocytes en empêchant la transcription de PPARγ (Tong et al., 2000). EGR1 est un facteur de transcription à doigt de zinc stimulant l'adipogenèse (Boyle et al., 2009). Son expression est induite de façon transitoire par l'insuline et régule positivement l'expression de la leptine et négativement celle d'ATGL (Meriin et al., 2022). Bien que l'activation de la signalisation Wnt soit impliquée



dans la cancérisation et la prolifération cellulaire, elle est un régulateur négatif de l'adipogenèse. La voie canonique stabilise la  $\beta$ -caténine ce qui inhibe la transcription de PPAR $\gamma$  et de C/EBP $\alpha$  (Ross et al., 2000; Xie et al., 2018).

Finalement, les études de délétion ou surexpression spécifiques, ainsi que les études *in vitro* ont permis d'établir les conditions nécessaires à l'adipogenèse. Ainsi, les milieux adipogéniques contiennent souvent de l'insuline, des hormones thyroïdes comme la T3, des agonistes spécifiques de PPAR $\gamma$ , un inducteur de l'AMPc ou inhibiteur de la phosphodiesterase comme la 3-isobutyl-1-méthylxanthine (IBMX), et un glucocorticoïde comme la dexaméthasone.

### Le rôle des autres PPARs dans le TA blanc

Il existe trois isotypes de PPARs ( $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ ). Cependant, seul PPAR $\gamma$  semble essentiel à l'adipogenèse *in vitro* ou *in vivo*. Il n'empêche que les autres isotypes sont aussi exprimés dans le TA blanc. Tous les PPARs partagent de nombreuses similarités de structures, de fonctionnements et parfois même de gènes cibles.

#### PPAR $\alpha$

Etant fortement exprimé dans le foie, le rôle de PPAR $\alpha$  est bien documenté dans ce tissu. Au niveau hépatique, l'expression de PPAR $\alpha$  augmente de manière significative pendant le jeûne (Kersten et al., 1999; Dalen et al., 2006). Cela permet à l'organisme de s'adapter à la privation de nourriture en mobilisant les réserves lipidiques et en augmentant la  $\beta$ -oxydation des acides gras pour produire de l'énergie et la céto-genèse.

Le rôle de PPAR $\alpha$  dans le TA est moins clair. Dans le TA blanc particulièrement, son expression est basse. Cependant, chez la souris nourrie avec un régime riche en graisse, la délétion de PPAR $\alpha$  dans les cellules exprimant l'adiponectine induit une activation de la Sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP1) et de ses cibles FASN et la Stearoyl-CoA 9-desaturase (SCD1), associée à une augmentation du marqueur inflammatoire NOS2 (Hinds et al., 2021). Cette augmentation de l'inflammation n'est observée que chez les souris mâles. Aussi, l'expression de PPAR $\alpha$  est également diminuée dans le TA blanc de souris atteintes d'obésité induite génétiquement ou par l'alimentation. Au contraire, elle est augmentée dans le TA blanc par le jeûne (Goto et al., 2011).

L'activation pharmacologique de PPAR $\alpha$ , par le Wy-14,643, supprime l'augmentation de l'expression du TNF- $\alpha$  et du MCP-1 dans le TAblanc de souris diabétique KKay par rapport au véhicule. Ce traitement limite également l'hypertrophie adipocytaire. Le Wy-14,643 maintient également l'expression du récepteur de l'adiponectine (AdipoR)-1 et de l'AdipoR2 dans le TA blanc de ces souris diabétiques (Tsuchida et al., 2005). Par ailleurs, dans l'adipocyte blanc, PPAR $\alpha$  interagit avec PGC1 $\alpha$  pour induire l'expression de la glycérol kinase (GK) (Mazzucotelli et al 2007). Cette interaction participe à la réalisation d'un cycle futile d'hydrolyse des TG et de réestérification des AG.

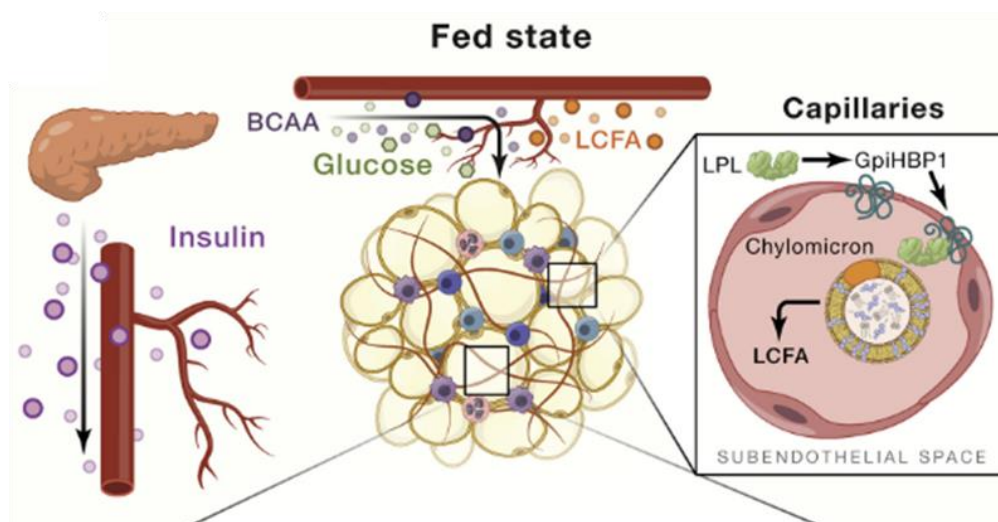
#### PPAR $\beta/\delta$

Comme l'expression de PPAR $\alpha$  est modulée en fonction de l'état nutritionnel dans le TA blanc et le foie, il peut être considéré comme un senseur énergétique dans ces tissus. L'expression de PPAR $\delta$  est également augmentée par je jeûne mais dans le muscle squelettique (Holst et al., 2003). L'expression de PPAR $\beta/\delta$  augmente avec la différenciation adipocytaire. *In vitro*, sa surexpression dans les NIH-3T3 induit la différenciation adipocytaire et l'expression de marqueurs adipogéniques comme PPAR $\gamma$ 2 (Hansen et al., 2001). Aussi, la souris délétée pour PPAR $\beta/\delta$  a des dépôts de TA gonadiques réduits (Peters et al., 2000). *In vitro*, l'activation de PPAR $\beta/\delta$  dans les adipocytes et les cellules musculaires squelettiques favorise l'oxydation et l'utilisation des AG (Wang et al., 2003). Par ailleurs, la surexpression de PPAR $\beta/\delta$  réduit l'adiposité par augmentation de l'expression des gènes de l'oxydation des AG.

### Les fonctions de l'adipocyte blanc

La variabilité de taille d'adipocytes repose principalement sur deux fonctions, la lipogenèse et la lipolyse. Le TA blanc joue un rôle crucial dans la régulation de l'équilibre énergétique par le stockage et la libération des AG, un processus régi par l'équilibre dynamique entre la lipogenèse et la lipolyse. Cet équilibre est essentiel au maintien de l'homéostasie énergétique, en particulier pendant le jeûne ou l'exercice.

Passage de acides gras plasmatique vers l'adipocyte  
 Les AG issus de circulation peuvent être incorporés à l'adipocyte de façon active. Ils proviennent soit de l'alimentation, soit de la lipogenèse hépatique. Ces AG sont transportés dans la circulation, associés à l'albumine ou incorporés dans les TG des lipoprotéines riches en TG (VLDL, very low density lipoproteins ou chylomicrons). L'adipocyte est capable de synthétiser et d'exporter une lipase, la lipoprotéine lipase (LPL) vers les cellules endothéliales. La LPL hydrolyse les TG des lipoprotéines. Les AG ainsi produits pourront passer la barrière endothéliale de façon passive avant d'être incorporés à l'adipocyte de façon active. La souris hétérozygote pour la LPL présente une légère hypertriglycéridémie quand la souris délétée pour la LPL n'est pas viable et souffre de sévère hypertriglycéridémie au stade néonatal (Weinstock et al., 1995). Cette hydrolyse est finement régulée par l'adipocyte, la cellule endothéliale et le statut nutritionnel (**Figure 20**). En effet, la transcription de la LPL est sous le contrôle des facteurs de transcriptions SREBP1 et PPAR $\gamma$ . Son activité catalytique est dépendante de sa maturation par LMF1 (lipase maturation factor 1). La LPL se lie aussi à la glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1) qui la stabilise au niveau de la lumière du capillaire endothélial (Goulbourne et al., 2014, Young et al., 2019). Lors du jeûne, la transcription d'ANGPTL4 (angiopoïetin like 4) est augmentée (Wang and Eckel, 2009). Cette protéine inhibe l'activité de la LPL diminuant de fait l'incorporation des AG dans l'adipocyte.



**Figure 20: Transport de nutriments vers le TA**

En situation nourri, stimulé par des signaux hormonaux comme l'insuline, la capture de nutriments par les adipocytes est activée. La sécrétion de la LPL par les adipocytes permet l'hydrolyse des TG des lipoprotéines circulantes au niveau des cellules endothéliales. La LPL est stabilisée par GPIHBP1. Les AG issus de cette hydrolyse sont captés de façon active par l'adipocyte. D'après (Sakers et al., 2022).

Ces AG sont ensuite pris en charge par des protéines de l'adipocyte, le récepteurs membranaire FAT/CD36 (Fatty Acid Translocase/CD36), et d'autres protéines de transports comme les FATPs (fatty acid transport proteins) et FABPpm (plasma membrane-fatty acid binding protein) (Endemann et al., 1993; Wu et al., 2006; Kazantzis and Stahl, 2012; Thompson et al., 2010). Chez la souris, une déficience en CD36 induit une diminution de la capture des acides gras, et en conséquence une augmentation du taux plasmatique de VLDL et d'AG libres (Coburn et al., 2000). CD36 semble également impliqué dans l'adipogenèse (Christiaens et al., 2012) et il s'agit d'un gène dont l'expression est régulée par les agonistes de PPAR $\gamma$  (Martin et al., 1998; Motojima et al., 1998). Suite à ce transport actif vers le cytoplasme des adipocytes, les AG sont pris en charge par des protéines comme FABP4 (Schaffer, 2002) qui est fortement exprimée dans les adipocytes blancs (Chouchani and Kajimura, 2019).

#### Synthèse des triglycérides

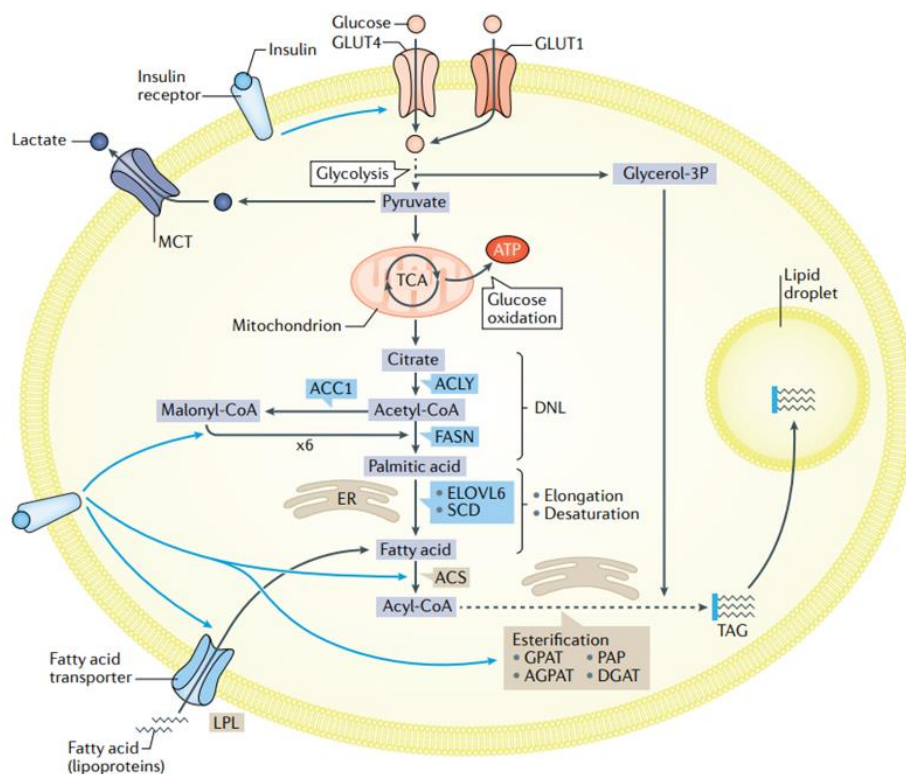
Les AG sont ensuite activés et convertis en Acyl-CoA par les acyl-CoA synthétases. Cette conversion permet la formation de triglycérides par estérification des AG sur un squelette de glycérol-3-phosphate (G3P). À l'état nourri, le G3P est produit à partir du glucose pendant la glycolyse. Le processus d'estérification est réalisé par l'action séquentielle de diverses enzymes, (acyl transférases, phosphatases d'acide phosphatidique et des diacylglycérol acyltransférases : GPAT, AGPAT, LIPIN et DGAT. Les DGAT catalysent la formation de TG à partir du diacylglycérol (DG). Chez la souris, l'ablation spécifique des adipocytes de DGAT1 ou de DGAT2 indique que cette dernière n'est pas nécessaire à la formation des TG dans le TA. En revanche, DGAT1 joue un rôle important dans la protection du réticulum endoplasmique (RE) contre les effets lipotoxiques d'un régime riche en graisse (Chitraju et al., 2019). Les intermédiaires de la synthèse des TG, l'acide lysophosphatidique, l'acide phosphatidique et le diacylglycérol sont aussi des précurseurs pour la synthèse des phospholipides (Shi and Cheng, 2009).

#### La lipogenèse de novo

Les AG incorporés dans les TG peuvent également être synthétisés de façon endogène en métabolisant du glucose dans le cas de la lipogenèse de novo (DNL). Le glucose est transporté par les transporteurs GLUT1 et GLUT4. Selon l'état nutritionnel et les niveaux d'insuline, GLUT4 est recruté à la membrane plasmique et permet ainsi au glucose de pénétrer dans l'adipocyte, où il est métabolisé lors de la glycolyse (Watson et Pessin, 2001).

Le pyruvate, produit de la glycolyse, est transformé dans la mitochondrie en acétyl-CoA par la pyruvate déshydrogénase (PDH) pour entrer dans le cycle de Krebs afin de produire de l'énergie. Dans le cytoplasme, l'acétyl-CoA peut alors être synthétisé à partir du citrate issu du cycle de Krebs par l'action de l'ATP citrate lyase (ACLY) puis l'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC) convertit l'acétyl-CoA en malonyl-CoA (Ishii et al., 2004). Par la suite, la FASN est responsable de la synthèse du palmitate (C16:0). D'autres AG peuvent ensuite être générés par l'action d'élongases et désaturases comme ELOVL6 ou SCD1. Ces différents AG peuvent par la suite être impliqués dans la synthèse de TG (**Figure 21**).

Le TA blanc est équipé au niveau enzymatique pour réaliser ce type de lipogénèse à partir de glucose. Cependant, chez l'homme, la DNL est majoritairement hépatique (Diraison et al., 2003). Chez les patients souffrants d'obésité, les niveaux de GLUT4 et des enzymes impliqués dans la DNL sont diminués dans le TA alors que la DNL hépatique est augmentée (Herman et al., 2012; Eissing et al., 2013).



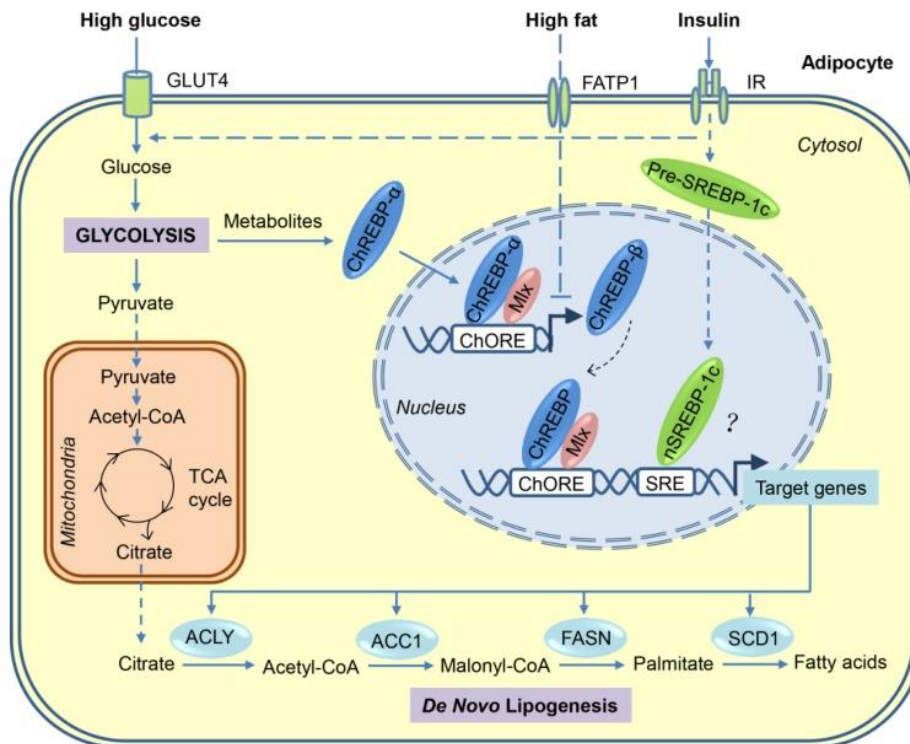
**Figure 21: Métabolisme du glucose et synthèse lipidique des adipocytes blancs**

GLUT1 et GLUT4 permettent la capture de glucose par l'adipocyte. GLUT4 étant insulino-sensible. La glycolyse génère du glycérol-3-phosphate, nécessaire à la synthèse des TG. La glycolyse permet aussi la synthèse de pyruvate oxydée par le cycle de Krebs pour produire de l'énergie ou de citrate pour la synthèse de novo d'AG. D'après (Morigny et al., 2021).

Régulation de la lipogenèse de novo

Les enzymes de la DNL peuvent être régulés au niveau transcriptionnel, post-traductionnel mais aussi par les niveaux circulants de glucose et d'insuline permettant la translocation de GLUT4 à la membrane. Plusieurs facteurs de transcription peuvent moduler l'expression des enzymes de la DNL (**Figure 22**). Il s'agit de SREBP1c, du carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) et des liver X receptors (LXRs). Cependant, seul ChREBP semble réellement être impliqué dans la DNL de l'adipocyte. En effet, SREBP-1c est un régulateur majeur de la DNL hépatique car il est à la fois nécessaire et suffisant pour la DNL dans ce tissu (Kohjima et al., 2008). En revanche, la souris déficiente pour SREBP-1c présente des niveaux normaux pour les enzymes de la DNL dans le TA blanc (Shimano et al., 1997; Sekiya et al., 2007).

ChREBP, également connu sous le nom de MLXIPL, est un membre de la famille des facteurs de transcription à motif hélice-boucle-hélice, responsable de la transcription induite par les glucides des enzymes glycolytiques et lipogéniques (Uyeda et al., 2002; Iizuka et al., 2004). Il a deux isoformes, ChREBP $\alpha$  et ChREBP $\beta$ , récemment identifiées, qui est codée par le même gène *MLXIPL*. ChREBP $\alpha$  est l'isoforme la plus abondante activée la première en réponse au glucose. ChREBP $\alpha$  se fixe sur l'élément de réponse ChoRE. Cependant, pendant le jeûne ou en présence de faibles concentrations de glucose, ChREBP $\alpha$  est phosphorylée par la Protein Kinase A (PKA) et l'AMP-activated protein kinase (AMPK) retenant le facteur de transcription dans le cytosol (Kawaguchi et al., 2001; Kawaguchi et al., 2002). L'isoforme ChREBP $\beta$ , dépourvue de la majeure partie du domaine N-terminal inhibiteur du glucose, est constitutivement active dans la stimulation de l'expression des gènes cibles, et sa transcription est induite de manière rétroactive par ChREBP $\alpha$  et ChREBP $\beta$ . La surexpression de GLUT4 dans les adipocytes augmente l'expression des enzymes lipogéniques, la synthèse des AG, l'accumulation de lipides et l'adiposité par l'induction de l'expression de ChREBP $\beta$  médiée par ChREBP $\alpha$ , mais pas par SREBP1c. Les niveaux de ChREBP dans le TA sont fortement corrélés à la sensibilité à l'insuline chez l'homme, surtout pour ChREBP $\beta$  et sont réduits par les régimes riches en graisses ou l'obésité (Herman et al., 2012; Eissing et al., 2013; Tang et al., 2016). Aussi, la DNL médiée par ChREBP dans les adipocytes a des effets bénéfiques sur le métabolisme en générant des AG permettant d'augmenter la sensibilité à l'insuline tels que les fatty acid esters of hydroxy fatty acids (FAHFA) (Kursawe et al., 2013 ; Vijayakumar et al., 2017).



**Figure 22: Régulation transcriptionnelle de la lipogenèse de novo**

Après la capture du glucose, sa métabolisation en pyruvate suivi de son oxydation par le cycle de Krebs, le citrate est exporté de la mitochondrie. Il permet la synthèse d'Acétyl-CoA, précurseur des AG grâce à l'action de l'ACLY. Au niveau cytosolique, l'Acétyl-CoA est converti en Malonyl-CoA par l'ACC1. Le palmitate est produit par la FASN. Les autres AG sont issus de l'élongation et la désaturation par divers enzymes comme SCD1 ou ELOVL6 par exemple. L'expression des gènes de la lipogenèse de novo est contrôlée par des facteurs de transcriptions, ChREBP et SREBP1, le premier principalement actif dans le TA alors que le rôle de SREBP1 est plus important au niveau hépatique. D'après (Song et al., 2018).

## Lipolyse

Lorsque les besoins en énergie augmentent, les réserves de l'adipocyte peuvent être mobilisées. Cette situation se produit par exemple en période de jeûne ou lors d'un exercice physique. Trois lipases adipocytaires réalisent cette hydrolyse des TG, ATGL, codée par le gène Pnpla2, la lipase hormono-sensible (HSL), codée par le gène Lipe et la monoacylglycérol lipase (MGL). A l'issue de ce processus, la majeure partie du glycérol et des AG libres rejoint la circulation sanguine. Le glycérol rejoint le foie alors que les AG sont acheminés à d'autres organes périphériques notamment les muscles squelettiques, le cœur et le foie. Une partie du glycérol, et des AG libres peuvent également être recyclés et réestérifiés sous forme de TG.

L'ATGL catalyse la première étape d'hydrolyse des TG dans l'adipocyte. Elle a pour substrat les TG, qu'elle hydrolyse en une molécule d'AG et un DG (Zimmermann et al., 2004). Chez la souris, une délétion totale de Pnpla2, ou spécifiques aux adipocytes réduit drastiquement la lipolyse basale et stimulée (Haemmerle et al., 2006; Ahmadian et al., 2011; Schoiswohl et al., 2015). L'action d'ATGL est contrôlée notamment par l'ABHD5 (ou CGI58, Comparative Gene Identification 58) au niveau de la gouttelette lipidique. Dans des conditions basales, CGI-58 est associé préférentiellement à la PLIN1, une protéine structurale des gouttelettes lipidiques dans les adipocytes. Lorsque la lipolyse est activée, la PLIN1 est phosphorylée par la PKA, libérant CGI-58 de la PLIN1. CGI-58 peut alors interagir avec l'ATGL, favorisant ainsi la dégradation des triglycérides (Granneman et al., 2007). L'interaction d'ATGL avec d'autres protéines comme GOS2 ou FSP27 inhibe son activité (Yang et al., 2010; Grahn et al., 2014). Au contraire, l'interaction entre FSP27 et PLIN1 favorise la formation de larges gouttelettes lipidiques (Grahn et al., 2013).

La HSL est la deuxième enzyme qui intervient dans la lipolyse. Elle hydrolyse le DG, bien qu'elle présente également une activité d'hydrolyse du TG et même des monoacylglycérols. Le déficit en HSL entraîne une accumulation de DG dans le TA et une diminution de la lipolyse stimulée aussi bien chez la souris (Haemmerle et al., 2002) que chez l'homme (Bezair et al., 2009; Albert et al., 2014, Zechner et Langin, 2014). L'activité d'HSL est modulée par sa liaison avec la PLIN1 (Wang et al., 2009). Certaines sérines de la HSL peuvent également être phosphorylées par la PKA ou la PKG. Ces phosphorylations exposent le site catalytique de la HSL et permettent sa liaison avec FABP4. Ce complexe HSL-FABP4 peut alors subir une translocation du cytoplasme vers la gouttelette lipidique. La troisième enzyme, la monoglycéride lipase, catalyse l'hydrolyse du monoacylglycérol en glycérol et en acide gras, même si la HSL est aussi capable de cette hydrolyse (Taschler et al., 2011).

#### Régulation de la lipolyse

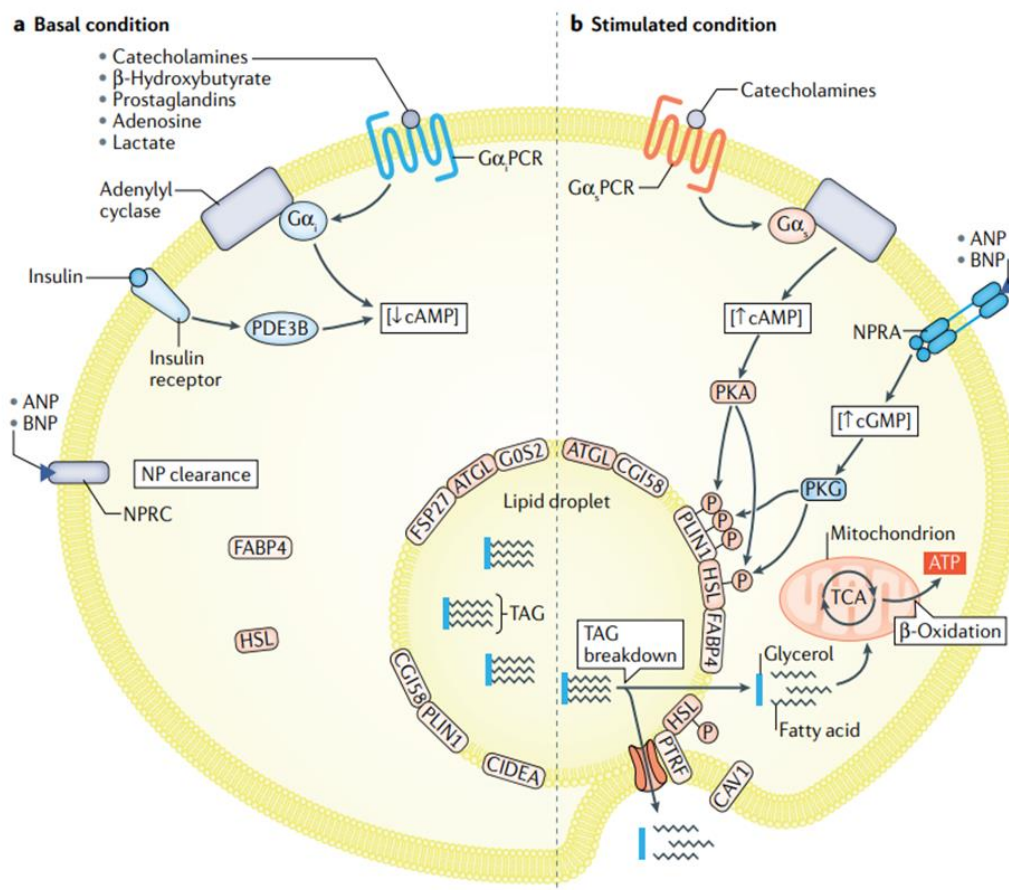
La lipolyse est donc un mécanisme finement régulé, notamment régulée par les protéines associées à la gouttelette lipidique. Elle peut aussi être stimulée par les peptides natriurétiques ANP (Atrial Natriuretic Peptide) et BNP (Brain Natriuretic Peptide) et les catécholamines (**Figure 23**). L'innervation sympathique est un point de contrôle central de l'activité lipolytique dans le TA (Bartness et al., 2010). Les catécholamines, telles que la noradrénaline et l'adrénaline, agissent sur les récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, qui sont associés



à une protéine Gs. On distingue trois types de récepteurs  $\beta$ -adrénergiques  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ . Chez les rongeurs, les trois récepteurs  $\beta$ -adrénergiques sont exprimés dans le TA blanc. Le récepteur  $\beta_3$  étant prédominant. La souris déficiente pour le récepteur  $\beta_3$ -adrénergiques présente une légère augmentation de l'adiposité (Revelli et al., 1997; Susulic et al., 1995). La souris n'exprimant aucun récepteur  $\beta$ , est légèrement obèse en régime contrôle. Avec un régime riche en graisses, cette souris développe une obésité massive. (Bachman et al., 2002). Chez l'homme, les récepteurs  $\beta_1$  et  $\beta_2$  sont impliqués dans l'activation de la lipolyse, tandis que chez les rongeurs, c'est le récepteur  $\beta_3$  qui est actif. *In vitro* dans les adipocytes 3T3-L1, sa stimulation induit l'activation de la p38 MAPK (Mizuno et al., 2002). Cependant, le rôle du récepteur  $\beta_3$  dans le TA blanc humain reste incertain, car il ne semble pas contribuer à la lipolyse induite par les catécholamines, bien qu'il soit essentiel pour stimuler la lipolyse dans le TA brun. L'interaction entre les catécholamines et les récepteurs  $\beta$ -adrénergiques stimule la production d'AMPc par l'adénylate cyclase, augmentant l'activité de la PKA. Les peptides natriurétiques, comme l'ANP et le BNP, favorisent également la lipolyse en se liant à leur récepteur NPRA, qui active la guanylate cyclase et produit du GMP cyclique. La PKG est également capable de stimuler la lipolyse en phosphorylant la PLIN1 et HSL.

L'insuline est l'hormone principale qui s'oppose à la lipolyse. Dans des conditions basales, l'insuline inhibe la lipolyse par l'activation de l'enzyme de dégradation de l'AMPc, la phosphodiesterase 3B (PDE3B). L'inhibition de la synthèse de l'AMPc est médiée par l'activation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) anti-lipolytiques  $G\alpha$ .

Il existe de nombreux récepteurs et molécules anti-lipolytiques qui fonctionnent via des récepteurs couplés aux protéines  $G_i$ . Les catécholamines peuvent inhiber la lipolyse lorsqu'elles se lient aux récepteurs  $\alpha_2$ -adrénergiques. Que les catécholamines activent ou inhibent la lipolyse dépend de leur affinité relative pour les récepteurs  $\beta_{1/2}$ -AR et  $\alpha_2$ -AR. D'autres récepteurs, tels que le récepteur des prostaglandines E de type EP3, le récepteur à l'adénosine de type A1, et les récepteurs au neuropeptide Y/peptide YY, à l'acide nicotinique et au lactate, inhibent également l'activité de l'adénylate cyclase.



**Figure 23: Contrôle de la lipolyse de l'adipocyte blanc**

A l'état basal, l'insuline inhibe la lipolyse en activant la phosphodiesterase 3B, diminuant les niveaux d'AMP cyclique. De plus, la HSL est localisé dans le cytosol. L'interaction entre la PLIN1 et CGI-58 réprime l'activité de l'ATGL. La liaison de l'ANP et du BNP à leur récepteur inactif (NPRC) bloque l'action lipolytiques de ces peptides. En conditions stimulées, les peptides natriurétiques se lient à leurs récepteurs actifs (NPRA) augmentant les niveaux de GMP cyclique et l'activité de la PKG. En parallèle, les catécholamines augmentent l'activité de la PKA. Ces deux kinases phosphorylent et activent HSL et PLIN1. Aussi, l'activité d'ATGL est augmentée par sa liaison avec CGI-58. D'après (Morigny et al., 2021).

L'obésité est caractérisée par une dérégulation de la lipolyse. Progressivement, les adipocytes atteignent leur limite de stockage des AG. Par ailleurs, la lipolyse basale est augmentée (Bickerton et al., 2008). En conséquence, les taux circulants d'AG libres augmentent entraînant une accumulation ectopique de lipides dans les tissus périphériques. Cette augmentation de la lipolyse basale est en partie médiée par l'effet des cytokines inflammatoires comme le  $TNF\alpha$ , produits majoritairement par les macrophages mais aussi les adipocytes. En effet, le  $TNF\alpha$  favorise la phosphorylation et diminue l'expression de la PLIN1 (Zhang et al., 2002; Ryden et al., 2004).

## Fonction sécrétoire

L'adipocyte blanc est ainsi la cellule la mieux équipée pour stocker et mobiliser les lipides. Cependant, il joue un rôle important dans la sécrétion de molécules bioactives. Ces facteurs pouvant agir sur les cellules voisines (action paracrine) ou sur les cellules d'autres organes (action endocrine). Les sécrétions du TA pouvant également provenir des cellules de la FSV.

### Leptine et adiponectines

La leptine est l'une des premières adipokines caractérisées (Zhang et al., 1994). La leptine est une protéine de 16 kDa majoritairement sécrétée par les adipocytes blancs. Ses niveaux circulants sont donc proportionnels à l'adiposité de l'individu. Durant l'obésité, l'augmentation de la leptinémie est associée à une résistance à la leptine (Farooqi and O'Rahilly, 2014). L'hyperleptinémie participe aussi à l'inflammation du TA en induisant la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$  et IL-6) par les macrophages. La leptine est une hormone anorexigène agissant via son récepteur, principalement exprimé dans le système nerveux central, au niveau de l'hypothalamus (Chen et al., 1996). La leptine régule également d'autres fonctions comme la fertilité, l'immunité ou encore la formation osseuse (Friedman et al., 2016).

L'adiponectine est l'autre adipokine majoritaire. Elle est sécrétée par les adipocytes, principalement ceux du TA blanc. Cependant, les niveaux d'adiponectine sont négativement corrélés à la quantité de TA (Arita et al., 1999). Sa concentration plasmatique diminue chez les sujets obèses et/ou diabétiques (Hara et al., 2006). Elle possède des effets anti-diabétiques, anti-athérogènes, anti-fibrotiques et anti-inflammatoires (Maeda et al., 2002; ). Ses effets passent par les récepteurs AdipoR1 et AdipoR2. La liaison de l'adiponectine à ses récepteurs active l'AMPK dans le foie et le muscle squelettique, améliorant ainsi la sensibilité à l'insuline et l'homéostasie glucidique. Cette liaison induit aussi la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires tout en inhibant le recrutement des monocytes (Kadowaki et al., 2006; Kadowaki et al., 2014). Les récepteurs de l'adiponectine sont aussi exprimés par les cellules  $\beta$ -pancréatiques. L'adiponectine régule la sécrétion d'insuline et prévient l'apoptose des cellules  $\beta$  (Dunmore et al., 2013; Ye et al., 2015).

L'adipocyte et les cellules de la FSV sécrètent également de nombreuses cytokines, aussi bien anti-inflammatoires comme l'Interleukine 10, ou favorisant cette inflammation et la dysfonction métabolique du TA.

## Cytokines

L'adipocyte est capable de sécréter le TNF- $\alpha$ , il est majoritairement sécrété par les macrophages qui s'accumulent dans le TA durant l'obésité (Weisberg et al., 2003; Coenen et al., 2007). Le TNF- $\alpha$  favorise le développement de l'insulinorésistance dans le TA et les muscles squelettiques en augmentant la phosphorylation inhibitrice d'IRS1 tout en diminuant la translocation de GLUT4 (Cawthorn and Sethi, 2008; Steinberg et al., 2006). En présence de glucose, le TNF- $\alpha$  augmente aussi la lipolyse (Green et al., 2004). Cette lipolyse dépendante du TNF- $\alpha$  est normalisée par le traitement avec les thiazolidinediones indiquant un rôle de PPAR $\gamma$  (Souza et al., 1998). Le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et le facteur de croissance transformant bêta (TGF- $\beta$ ) sont aussi des cytokines inhibant la différenciation adipocytaire (Gustafson et al., 2006; Alessi et al., 2000; Ignatz et al., 1985).

L'IL-6 est une autre cytokine dont les niveaux sont positivement corrélés à l'insulinorésistance. L'IL-6 inhibe la phosphorylation d'IRS1 sur résidus tyrosine en réponse à l'insuline (Rotter et al., 2003). Chez la souris, l'inactivation du gène de l'IL-6 favorise l'obésité et l'intolérance au glucose (Stenlof et al., 2003), qui peuvent être corrigées par l'injection centrale d'IL-6 (Wallenius et al., 2002). L'implication de la signalisation de l'IL-6 dans la dysfonction du TA a été confirmée par l'étude de la délétion spécifique du récepteur de l'IL-6 (IL-6RA) dans les cellules myéloïdes (Mauer et al., 2014).

Chez les rongeurs et l'homme, l'expression au sein du TA de MCP1, une protéine chimioattractante des monocytes, est augmentée proportionnellement à l'adiposité. Les niveaux circulants de MCP1 augmentent avec l'obésité et diminuent après un traitement par thiazolidinediones. La délétion du gène codant pour MCP1 atténue le développement de l'obésité chez les souris nourries avec un régime riche en graisses, en réduisant le recrutement de macrophages inflammatoires, en augmentant l'expression de l'adiponectine et améliorant la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline (Weisberg et al., 2006). Par ailleurs, cette délétion induit également le brunissement du TABlanc (Rajasekaran et al., 2019).

## Lipokines

Le métabolisme actif des lipides dans l'adipocyte ne permet pas uniquement la synthèse de lipides de structures, leur stockage et leur mobilisation. L'adipocyte sécrète également de nombreux lipides bioactifs, les lipokines. Les produits de lipolyse peuvent par exemple réguler l'expression des gènes cibles de PPAR $\alpha$  au niveau hépatique durant le jeûne ou la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Montagner et al., 2016; Fougerat et al., 2022).

En 2008, l'étude de souris invalidées pour FABP4 a identifié le palmitoléate comme une lipokine (Cao et al., 2008). Sa sécrétion est en effet largement augmentée chez la souris FABP4 $^{-/-}$  qui est protégée de l'obésité et de la stéatose hépatique induite par l'alimentation et présente une meilleure sensibilité à l'insuline. Le palmitoléate est un AG monoinsaturé issu de la DNL. Chez la souris, la supplémentation en palmitoléate réduit l'athérosclérose (Cimen et al., 2016), améliore l'homéostasie du glucose (Yang et al., 2011). Au niveau hépatique, cette supplémentation supprime l'inflammation malgré l'induction d'une stéatose (Guo et al., 2012), notamment en ciblant les macrophages. Cependant, les liens entre palmitoléate et sensibilité à l'insuline restent plus difficiles à établir chez l'homme (Frigolet et al., 2017; Trico et al., 2020). Notons cependant que le palmitoléate inhibe l'expression d'UCP1 (Iwase et al., 2020). Ces effets bénéfiques au niveau inflammatoire et métabolique semblent donc indépendants de la thermogénèse.

La surexpression de GLUT4 dans l'adipocyte a mis en évidence une nouvelle classe de lipides bioactifs sécrétés par le TA (Yore et al., 2014). Il s'agit des esters d'acides gras d'acides gras hydroxylés (Fatty acid esters of hydroxy fatty acids, FAHFAs). Chez la souris, l'administration de certains FAHFA améliore l'homéostasie glucidique en augmentant la sécrétion d'insuline et de GLP-1. Cette classe de lipides est dépendante de la présence de ChREBP (Vijayakumar et al., 2017). Chez la souris et l'homme, les niveaux de certains FAHFAs sont corrélés à la sensibilité à l'insuline dans plusieurs organes comme le foie, les muscles ou le TA. Ils pourraient agir en activant GPR120 dans l'adipocyte pour augmenter le transport de glucose ainsi que GPR40 des cellules  $\beta$ -pancréatiques (Syed et al., 2018). Cependant, d'autres études ne retrouvent pas ces effets bénéfiques soulignant la difficulté d'étude et d'utilisation de cette classe de lipides bioactifs (Pflimlin et al., 2018; Syed et al., 2018).

Les sécrétions du TA peuvent directement se retrouver dans la circulation. Elles peuvent également être transportées par des vésicules. C'est le cas par exemple des micro-ARNs (mi-ARN), des ARNs non codants régulateurs principalement transportés par le biais d'exosomes (Huang-Doran et al., 2017). La transplantation de TA a montré que ce tissu est à l'origine de nombreux mi-ARNs pouvant réguler l'expression génique dans plusieurs organes notamment le foie (Thomou et al., 2017). La communication intercellulaire via ces vésicules extracellulaires provenant du TA fait l'objet d'une recherche intense (Crewe et al., 2022 ; Liu et al., 2023)

# C) Le tissu adipeux thermogénique

## Historique

L'organe adipeux est donc bien plus qu'un simple organe de réserve. Il est extrêmement diversifié et plastique. Le TA blanc divisé en plusieurs dépôts selon leurs localisations et leurs rôles dans le développement de l'obésité. Il existe également un autre type de TA, le TA brun ou thermogénique, dont la principale caractéristique est de libérer de l'énergie sous forme de chaleur. Le TA thermogénique a connu un regain d'intérêt lors de mise en évidence chez l'adulte. Ce tissu est pourtant décrit depuis le 16ème siècle chez les mammifères hibernants. Cependant, la capacité thermogénique du TA brun n'a été mise en évidence que dans les années 1960 (Donhoffer et al., 1964; Smith, 1962). Ce tissu est spécialisé dans la production de chaleur, sans nécessiter de contraction musculaire. Cette capacité permet une thermogénèse sans entraver l'utilisation normale des muscles. Le TA brun est présent chez les rongeurs tout au long de leur vie, mais il diminue rapidement après la naissance chez les mammifères de grande taille. Notons que le porc ne possède pas de TA brun actif à la naissance (Berg et al., 2006).

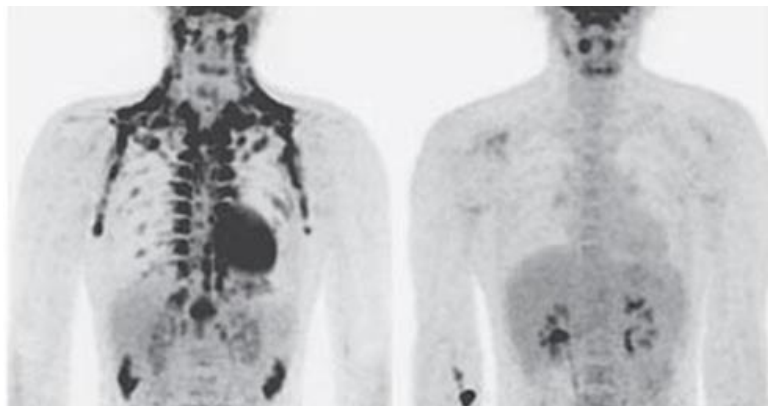
Indispensable pour les animaux hibernants (Smith and Hock, 1963), le TA brun est aussi très important chez l'homme lors de la naissance pour compenser le passage d'un environnement à 37°C à un environnement à 20-25°C. (Aherne and Hull, 1966; Himms-Hagen et Ricquier, 1997; Nicholls and Locke, 1984). Cette capacité est d'autant plus importante que les nouveau-nés sont incapables de frissonner. Le TA brun est ainsi présent autour de la circulation qui arrive et repart du cœur (Enerback, 2010).

En 1902, le biologiste japonais Hatai a observé pour la première fois le TA brun interscapulaire et supraclaviculaire chez les fœtus humains. Il a longtemps été admis que les capacités thermogéniques du BAT diminuaient après la naissance, même si le TA brun reste présent chez l'enfant durant les premières années (Heaton, 1972). Chez l'adulte le TA brun n'était retrouvé que dans des contextes bien particuliers. Les patients adultes atteints de phéochromocytome, une pathologie caractérisée par une sécrétion excessive d'adrénaline présentent une suractivation de leur TA brun (Ricquier et al., 1982, Geslot et al., 2019).

## Présence de TA brun actif chez l'adulte

La première preuve de la présence de dépôts thermogéniques fonctionnels chez l'adulte est venue d'études cliniques en radiologie. Jusqu'en 2002, peu d'études fonctionnelles étaient réalisées chez l'homme et la présence de TA brun n'était établie que par l'analyse histologique puis l'expression de la protéine découplante 1 (UCP1), acteur clé de la thermogenèse. La tomographie à émission de positons PET-CT (positron emission tomography-computed tomography) trace l'incorporation d'un analogue non-hydrolysable du glucose, le 18-FDG (18-fluorodeoxyglucose), permettant de visualiser les tumeurs qui sont des tissus métaboliquement très actifs. Le PET-CT scan a mis en évidence des zones à forte activité métabolique au niveau du cou ayant la densité du TA (Hany et al., 2002; Cohade et al., 2003). En combinant cette nouvelle technique d'imagerie et des biopsies réalisées dans ces zones, plusieurs études ont confirmé en 2009 que ces zones d'incorporation de 18-FDG correspondaient à du TA brun fonctionnel (Cypess et al., 2009; van Marken Lichtenbelt et al., 2009; Virtanen et al., 2009) (**Figure 24**). D'autres dépôts fonctionnels chez l'adulte ont été mis en évidence, notamment au niveau supraclaviculaire, cervical et axillaire (Leitner et al., 2017) (**Figure 25**).

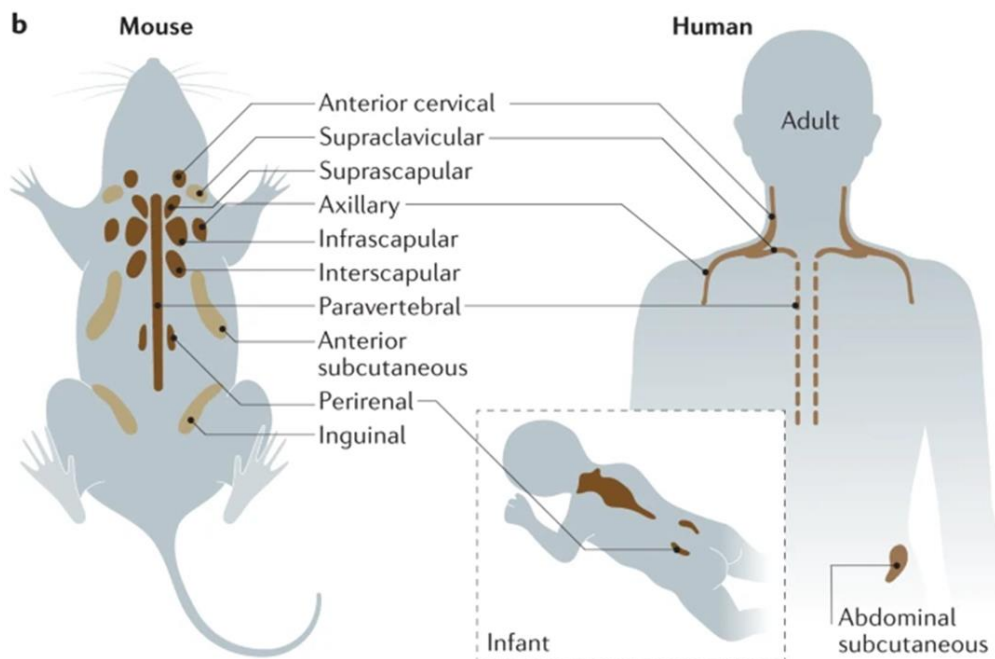
Dès lors, l'étude du TA brun connu un véritable regain au sein de la communauté scientifique et fut considéré comme une nouvelle piste dans la lutte contre l'obésité et les comorbidités associées. En effet, la prévalence de TA brun est corrélée de façon négative à l'IMC. De plus, la présence de dépôts thermogénique est associée négativement au taux circulant de glucose. Aussi, l'obésité viscérale est négativement associée à l'activité du TA brun (Kulterer et al., 2022).



***Figure 24: Présence de tissu adipeux thermoénique actif chez l'homme adulte***

PET/CT scans après et avant exposition au froid (16°C) chez un même individu (D'après van Marken Lichtenbelt et al., 2009).





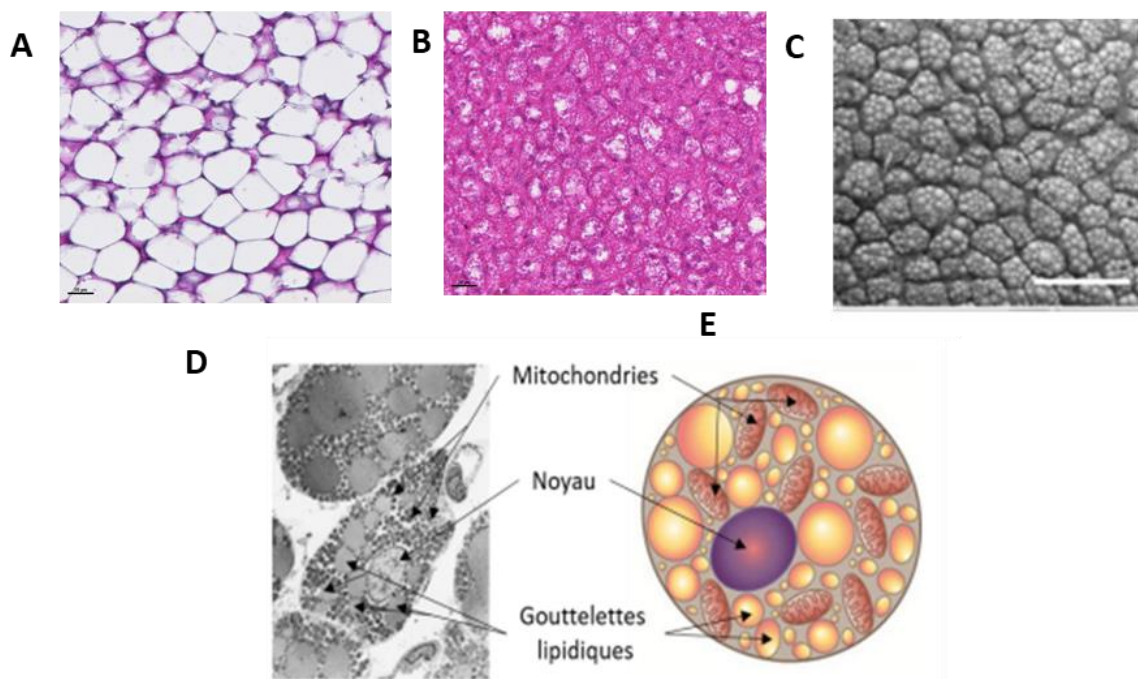
**Figure 25: Distribution anatomique du tissu adipeux brun chez la souris et l'homme**

Le tissu adipeux thermogénique a longtemps été considéré comme n'existant que chez les rongeurs, les mammifères hibernants et le nouveau-né. Il est principalement concentré au niveau interscapulaire et périrénal. Cependant, la médecine nucléaire a mis en évidence en 2009 l'existence de tissu adipeux thermogénique actif chez l'adulte. D'après (Cohen et Kajimura, 2021).

### L'adipocyte brun

Au niveau cellulaire, le TA brun est constitué d'adipocytes matures, de pré-adipocytes engagés dans la différenciation ainsi que des cellules composant la fraction stroma-vasculaire. L'adipocyte brun reste un adipocyte. Ainsi, il peut stocker l'énergie sous forme de TG, mais dans une moindre mesure que l'adipocyte blanc. Également doté de fonction lipolytique, l'adipocyte brun va, contrairement au blanc, utiliser localement les AG pour produire de la chaleur, et mettre à disposition cette énergie aux autres organes. Cette capacité relative de stockage peut être augmentée en cas de balance énergétique excessive ou lorsque l'environnement correspondant à la thermoneutralité, c'est-à-dire la température à laquelle le corps ne dépense pas d'énergie pour maintenir constante sa température corporelle. J'ai eu l'opportunité de discuter l'intérêt de la thermoneutralité en expérimentation animale (**Annexe 1**). En effet, encore aujourd'hui, la grande majorité des études animales sont menées à 22°C. Cette température est en deçà de la thermoneutralité de la souris. Ainsi, à 22°C, la souris est en situation de stress thermique ce qui impacte fortement le métabolisme du TA thermogénique (**Figure 26**) mais aussi d'autres tissus également.

Ces différences sont accompagnées de différences morphologiques. L'adipocyte brun contient de nombreuses petites gouttelettes lipidiques, une forte densité mitochondriale riches en chaînes respiratoires et cytochrome c (Tam et al., 2012). Il est également bien plus petit que l'adipocyte blanc avec environ 20-50  $\mu\text{m}$  de diamètre. Son noyau n'est pas repoussé près de la membrane. Ainsi, l'adipocyte a plutôt une forme multiloculée polygonale. En plus d'être plus nombreuses que dans l'adipocyte blanc, les mitochondries ont une morphologie particulière, avec un très grand nombre de crête mitochondriales et expriment la protéine découplante UCP1.



**Figure 26: Morphologie du tissu adipeux brun**

Coloration Hématoxyline/Eosine de coupe histologique de tissu adipeux brun (TA brun) de souris à 30°C (A) ou 22°C (B), TA brun de souris en microscopie électronique à balayage (C), photo d'un adipocyte brun en microscopie électronique à transmission (D) et sa représentation schématique E. Echelle 20  $\mu\text{m}$  (A,B), grossissement 4000x. (C, D) d'après (Cinti, 2018).

### Innervation et vascularisation

A la différence du TA blanc, les dépôts de TA brun sont richement vascularisés et les adipocytes bruns sont directement innervés par des fibres sympathiques, et très peu de fibres parasympathiques. Seul le TA brun médiastinal possède une innervation parasympathique (Giordano et al., 2004).

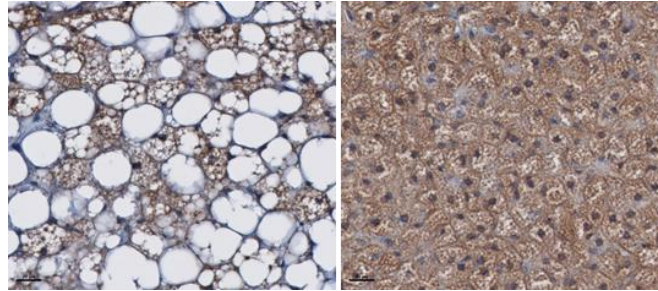
La température de l'environnement est détectée par des thermosenseurs comme la famille des canaux ioniques TRP (transient receptor potentiel), exprimés notamment à la surface de la peau et au niveau du système nerveux central (Morrison et al., 2012). Il existe des récepteurs TRP sensible au froid, le TRPM8, et trois récepteurs sensibles au chaud, TRPV1, 3 et 4 (Morrison et al., 2012). L'activation de ces thermosenseurs est intégrée au niveau central au niveau du noyau pré-optique de l'hypothalamus. (Schepers and Ringkamp, 2010). Lors d'une exposition au froid, ce dernier active le système nerveux central pour stimuler le système nerveux sympathique qui va sécréter de la noradrénaline.

La couleur caractéristique du TA brun est aussi due à son importante vascularisation. Elle permet à la fois, un transport efficace de divers substrats énergétiques ainsi qu'une meilleure distribution de la chaleur générée par ce tissu aux autres organes via la circulation. En comparaison du TA blanc, la densité vasculaire du TA brun est 5 à 10 fois supérieure (Lever et al., 1985). Une exposition au froid induit à la fois une augmentation locale du flux sanguin au niveau du TA brun ainsi qu'une angiogenèse dans ce tissu. Cette néovascularisation est liée à l'expression de VEGFA (Sun et al., 2014; Zhao et al., 2018). Au contraire, la délétion du VEGFA entraîne une diminution du réseau de capillaire associé au blanchiment du TA brun (Shimizu et al., 2014). Pour optimiser les échanges de nutriments et de chaleur, la stimulation sympathique peut aussi induire une vasodilatation via la production d'oxyde nitrique (NO).

### L'adipocyte beige

Les adipocytes bruns décrits chez la souris, ou chez le nouveau-né se trouvent au sein de dépôts clairement définis, entourés par un tissu conjonctif, les séparant du TA blanc environnant. Cependant, ces adipocytes ne sont pas les seuls dotés de capacités thermogéniques. Dès les années 1980, des adipocytes morphologiquement proches des adipocytes bruns ont été identifiés au sein de dépôts de TA blanc après une exposition au froid (Young et al., 1984). Ce même type d'adipocytes a été retrouvé dans du TA blanc après une stimulation avec des agonistes des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques (Cousin et al., 1992 ; Guerra et al., 1998). Ces adipocytes, appelés brites (pour « brown in white ») ou beiges ont donc une morphologie proche des adipocytes bruns classiques (Petrovic et al., 2010; Wu et al., 2012) (**Figure 27**). Ils possèdent aussi un profil d'expression intermédiaire entre celui des adipocytes blancs et celui des adipocytes bruns, avec des niveaux importants d'UCP1 par

exemple (Wu et al., 2012). Par ailleurs, ces adipocytes beiges contiennent de nombreuses mitochondries et une gouttelette lipidique multiloculaire (Sidossis and Kajimura, 2015). Ils émergent dans le TA blanc sous-cutané dans un processus appelé browning ou brunissement. Cette capacité en revanche quasiment absente dans les dépôts de TA blanc viscéraux (Walden et al., 2012).



***Figure 27: Adipocyte beige et adipocyte brun***

Expression d'UCP1 par immunohistochimie (IHC) dans le tissu adipeux beige et brun (Echelle : 20  $\mu$ m)

Ces adipocytes possédant des caractéristiques thermogéniques au sein du TA blanc sont d'un grand intérêt thérapeutique. Mais d'où proviennent ces adipocytes ? Acquièrent-ils un phénotype thermogénique à partir d'adipocyte blanc mature ? Dans ce cas, ils seraient issus d'une conversion ou transdifférenciation. On peut également penser à une différenciation de novo à partir de précurseurs spécifiques et différents des précurseurs des adipocytes blancs. Il existe des arguments en faveur des deux hypothèses.

Transdifférenciation et différenciation de novo

*In vivo*, le traçage inductible d'adipocytes matures juste avant une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique a mis en évidence l'émergence d'adipocytes beiges non marqués, donc issus de la différenciation de novo de précurseurs (Wang et al. 2013). L'exposition au froid peut induire une prolifération cellulaire dans le TA brun (Lee et al., 2015). PDGFR $\alpha$  (Platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$ ) a également été décrit comme un marqueur de progéniteurs adipocytaires pouvant donner des adipocytes blancs, beiges ou bruns au sein de TA en fonction du contexte environnemental ou nutritionnel. Après huit semaines de régime riche en graisse, les cellules PDGFR $\alpha$  positives sont capables de donner des adipocytes blancs alors qu'elles se différencient en adipocytes thermogéniques en réponse à une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Lee et al., 2012).

D'autres études indiquent au contraire, que les adipocytes beiges sont issus de transdifférenciation (Rosenwald et Wolfrum ; 2014). Au sein du TA blanc inguinal, la présence d'adipocytes multiloculés et exprimant UCP1 n'est pas obligatoirement associée à de la prolifération cellulaire (Barbatelli et al., 2010 ; Lee et al., 2015). De même, le brunissement du TA blanc n'est pas toujours associé à une augmentation de la quantité d'ADN dans le TA blanc, caractéristique de la prolifération cellulaire (Himms-Hagen et al., 2000). Le suivi d'adipocytes matures a mis en évidence l'émergence d'adipocytes beiges issus de ces adipocytes matures uniloculés après une exposition au froid (Lee et al., 2015).

Par ailleurs, le traçage d'adipocytes beiges a montré qu'ils peuvent perdre leurs caractéristiques thermogéniques, retrouver un profil d'expression génique et une morphologie proche des adipocytes blancs en cas de retour à la thermoneutralité (Lee et al., 2015; Rosenwald et al., 2013). In vitro, plusieurs modèles expérimentaux, notamment humains, permettent de mimer cette transdifférenciation. On peut citer par exemple les cellules hMADS où les agonistes de PPAR $\gamma$  permettent la conversion vers un phénotype thermogénique (Elabd et al., 2009; Pisani et al., 2011, Ghandour et al., 2016).

Les deux hypothèses concernant l'origine des adipocytes beiges semblent donc coexister. L'émergence de tels adipocytes étant un phénomène dynamique qui varie selon les dépôts adipeux, l'environnement la température, l'ampleur et la durée de la stimulation nécessitant une thermogénèse accrue. Les nouvelles techniques comme l'analyse transcriptionnelle spatiale, le séquençage sur cellule ou noyau unique permettent d'affiner les connaissances à ce propos (Maniyadath et al., 2023 ; Gupta et al., 2023 ).

### Origine des adipocytes bruns

Le traçage cellulaire chez la souris a mis en évidence l'origine commune des myocytes et des adipocytes bruns. Ces deux types cellulaires dérivent de précurseurs exprimant le facteur de régulation myogénique Myf5. (Seale et al., 2008). Les précurseurs d'adipocytes blancs n'expriment pas Myf5 (**Figure 28**). Au niveau embryonnaire, chez la souris, le suivi d'un autre facteur myogénique, Pax7, a montré que la divergence entre les myoblastes et les progéniteurs d'adipocytes avait lieu entre les jours embryonnaires 9,5 et 11,5 chez les souris (Lepper and Fan, 2010; Seale et al., 2000).

## Différenciation des adipocytes thermogéniques

### EBF2

Le facteur Early B Cell Factor-2 (EBF2) a d'abord été décrit comme un marqueur de différenciation brune (Jimenez et al., 2007) également impliqué dans le maintien de cette identité via son interaction avec PPAR $\gamma$  (Rajakumari et al., 2013). La souris délétée pour EBF2 voit l'expression des marqueurs thermogéniques réduite alors que celle des marqueurs adipogéniques n'est pas modifiée. Au contraire, son expression forcée dans les cellules musculaires induit la différenciation brune. Cependant, l'expression d'EBF2 semble jouer un rôle important encore plus précoce que l'adipogenèse. EBF2 est, en effet, un marqueur des précurseurs adipogéniques thermogéniques (Wang et al., 2014).

### PRDM16

Une fois engagée, l'un des principaux facteurs de la différenciation en adipocyte thermogénique est la protéine PR domain containing 16 (PRDM16). L'expression de ce facteur de transcription avec structure en doigt de zinc augmente fortement lors de la différenciation des adipocytes bruns *in vitro* (Seale et al., 2007). PRDM16 contrôle l'équilibre entre la différenciation en adipocytes thermogéniques et en cellules musculaires. En effet, l'expression ectopique de PRDM16 dans des précurseurs myogéniques inhibe les gènes caractéristiques des myocytes comme MyoD et la myogénine et induit la différenciation en adipocytes bruns en (Kajimura et al., 2009; Seale et al., 2008). Au contraire, la délétion de PRDM16, spécifiquement dans les précurseurs bruns de souris, inhibe la différenciation en adipocytes bruns tout en induisant celles des myocytes (Seale et al., 2008 ; Seale et al., 2007). L'expression ectopique de PRDM16 dans le TA blancs induit son brunissement (Kajimura et al., 2008; Seale et al., 2011; Seale et al., 2007). Le rôle de PRDM16 passe par son interaction avec d'autres facteurs impliqués dans la régulation transcriptionnelle comme les PPARs ou les C/EBPs (Hondares et al., 2011; Kajimura et al., 2009). PRDM16 peut être stabilisé ou voir sa demi-vie augmentée notamment par les agonistes de PPAR $\gamma$  (Ohno et al., 2013; Wang et al., 2022).

### PGC1 $\alpha$ et RIP140

La différenciation en adipocyte brun est associée à une forte augmentation de la biogenèse mitochondriale grâce à PGC1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ ). PGC1 $\alpha$  est un coactivateur interagissant avec plusieurs facteurs de transcriptions tels que

PPAR $\gamma$ , RXR et le thyroid hormone receptor (TRE) (Hondares et al., 2006). Son expression n'est pas nécessaire à la différenciation en adipocyte brun. Cependant, elle est induite dans certains adipocytes du TA blanc à la suite d'une exposition au froid. De plus, la délétion du gène codant pour PGC1 $\alpha$  chez la souris entraîne une intolérance au froid (Lin et al., 2004). À l'inverse, sa surexpression dans les adipocytes blancs augmente les niveaux d'UCP1 et la biogenèse mitochondriale (Mazzucotelli et al., 2007; Tiraby et al., 2003).

L'expression de PGC1 $\alpha$  est contrôlée négativement par RIP140, qui inhibe également la différenciation brune (Hallberg et al., 2008). En effet, la délétion de RIP140 induit le brunissement du TA blanc (Sawada et al., 2010; Kiskinis et al., 2014). RIP140 peut aussi séquestrer PGC1 $\alpha$  pour inhiber la formation du complexe PPAR $\gamma$ /PGC1 $\alpha$  au niveau du promoteur d'Ucp1 (Wang et al., 2008). RIP140 contrôle aussi la biogenèse mitochondriale dans le TA, le muscle squelettique et cardiaque (Powelka et al., 2006; Chen et al., 2012).

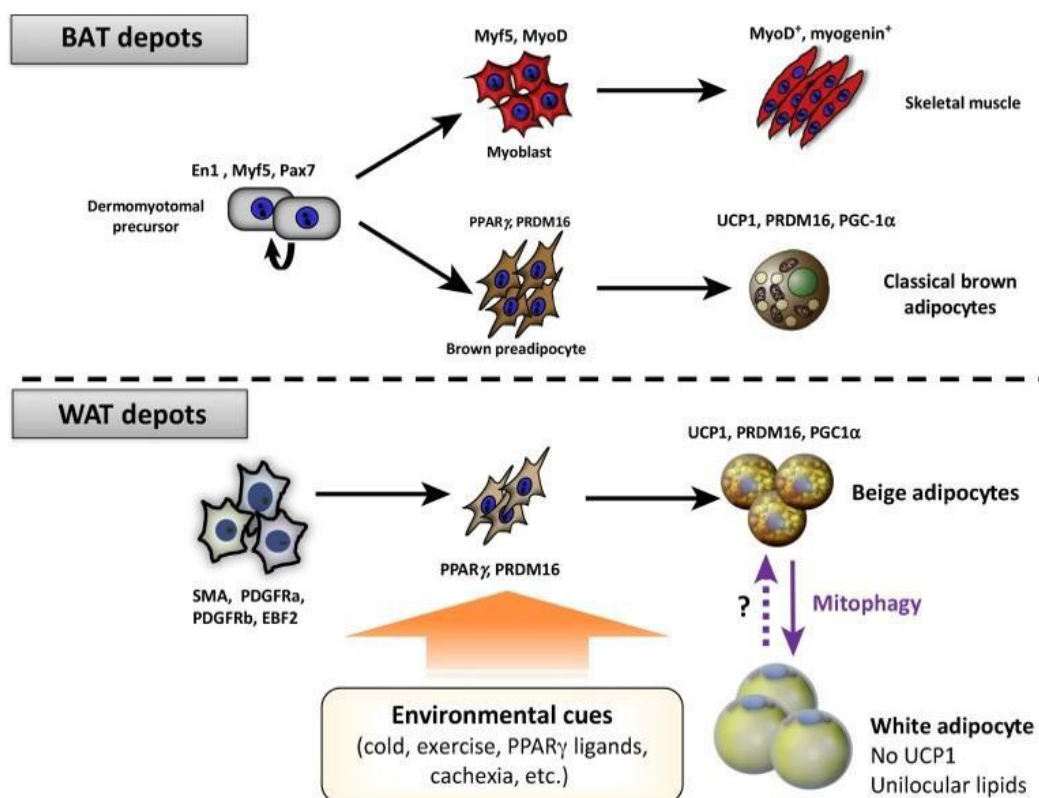
#### PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  est également un gène essentiel à la formation et l'activation d'adipocytes thermogéniques. Les souris présentant une mutation dominant négative de PPAR $\gamma$  (P465L) présentent un développement de TA normal. Cependant, cette mutation inhibe le brunissement du TA blanc à 4°C (Gray et al., 2006). Ces données couplées à l'effet des agonistes de PPAR $\gamma$  sur l'induction du programme thermogéniques indiquent que PPAR $\gamma$  est nécessaire à la fonction thermogénique. Plus récemment, l'utilisation de modèle de délétion spécifique du TA brun a permis d'affiner l'étude de PPAR $\gamma$  car celui est fortement exprimé dans tout le TA aussi bien blanc que brun. La délétion de PPAR $\gamma$  sous le contrôle du promoteur UCP1 a confirmé que PPAR $\gamma$  était nécessaire pour maintenir la capacité thermogénique des adipocytes bruns matures en réponse à l'activation de la voie  $\beta$ 3-adrénergique par le CL316,243 (Lasar et al., 2018). À 22°C, l'absence de PPAR $\gamma$  réduit aussi la taille du BAT et l'expression des gènes thermogéniques.

En plus de l'analyse des mutations affectant les PPARs et l'étude de modèles transgéniques, le rôle des PPARs peut également être étudié grâce à une approche pharmacologique. Ces membres de la superfamille des récepteurs nucléaires sont stimulés par les acides gras, les dérivés d'acides gras et les eicosanoïdes à des concentrations de l'ordre du micromolaire. Cependant, l'identité de ces ligands endogènes en conditions physiologiques reste discutée.

Ainsi, de nombreux ligands synthétiques ont été développés avec des activations obtenues à de plus faibles concentrations, sans activer les autres PPARs.

La présence d'agonistes de PPAR $\gamma$  est fréquemment retrouvée dans tous les milieux adipogéniques *in vitro*. La rosiglitazone fait partie de la famille des thiazolidinediones (TZD). Elle regroupe des agonistes synthétiques de PPAR $\gamma$  utilisés pour améliorer la sensibilité à l'insuline chez les patients atteints de diabète de type 2. En recherche, la rosiglitazone est également beaucoup utilisée pour la conversion d'adipocytes blancs en adipocyte thermogénique, murins ou humains (Petrovic et al., 2009 ; Pisani et al., 2011). Dans le TA blanc sous-cutané, la rosiglitazone induit le brunissement par stabilisation de la protéine PRDM16 (Ohno et al., 2012). Notons que cet effet est beaucoup moins marqué dans le TA blanc épidydimal. De même, l'effet adipogénique de la rosiglitazone est plus faible pour induire la différenciation adipocytaire des cellules issues de la FSV de TA blanc épidydimal (Schulz et al., 2010).



**Figure 28: Lignée cellulaire des adipocytes blancs, beiges et bruns**

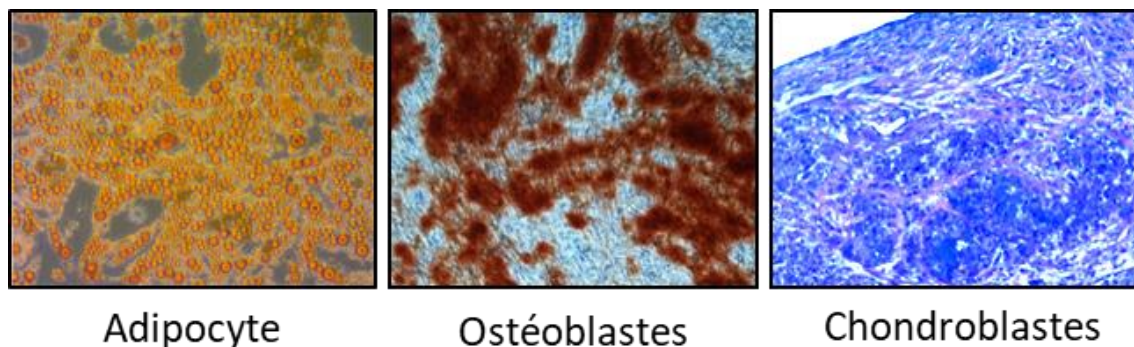
Le marqueur myogénique Myf5 est caractéristique des précurseurs des adipocytes du tissu adipeux brun, contrairement aux adipocytes beiges au sein du TA blanc, exprimant plutôt EBF2. L'expression de PRDM16 est constitutive dans les adipocytes bruns alors qu'elle peut être induite dans les adipocytes beiges par divers signaux environnementaux. Le phénotype thermogénique de ces derniers est aussi dynamique. D'après (Ikeda et al., 2018).



## Les cellules hMADS

Origine et description des cellules

Le laboratoire dans lequel je réalise mes travaux de thèse a mis au point un modèle d'étude *in vitro* d'adipocytes humains, les cellules hMADS pour human Multipotent Adipose-Derived Stem cells (Rodriguez et al., 2004). Les cellules hMADS sont non transformées et possèdent un caryotype normal. Elles sont également capables d'auto-renouvellement sans tumorigénicité, pendant des dizaines de passages (Zaragosi et al., 2006). *In vitro*, les cellules hMADS peuvent se différencier en ostéoblastes, en chondrocytes ou en adipocytes selon le milieu de culture (**Figure 29**). *In vivo*, les cellules hMADS peuvent également participer à la régénération osseuse et musculaire (Elabd et al., 2007; Rodriguez et al., 2005). Les cellules hMADS ont été établies à partir de plusieurs donneurs de sexe masculin et féminin. Les travaux présentés par la suite sont issus des cellules hMADS3 provenant du TA blanc pré-pubien d'un donneur de sexe masculin âgé de 4 mois. Non différenciées, les cellules hMADS sont de type fibroblastique.

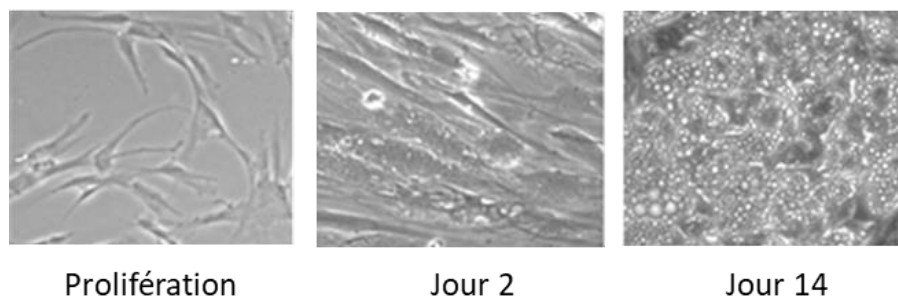


**Figure 29: Les différentes différenciations des cellules hMADS**

Différenciation des cellules hMADS en adipocytes mature

L'obtention d'adipocytes matures à partir des cellules hMADS nécessite une vingtaine de jours. La prolifération des cellules hMADS est réalisée en présence de sérum de veau foetal et d'un facteur mitogénique FGF2 (ou  $\beta$ -FGF) (Zaragosi et al., 2006). Lorsque la confluence est atteinte, le FGF2 est retiré du milieu durant deux jours pour permettre aux cellules hMADS d'arrêter la prolifération et de sortir du cycle cellulaire.

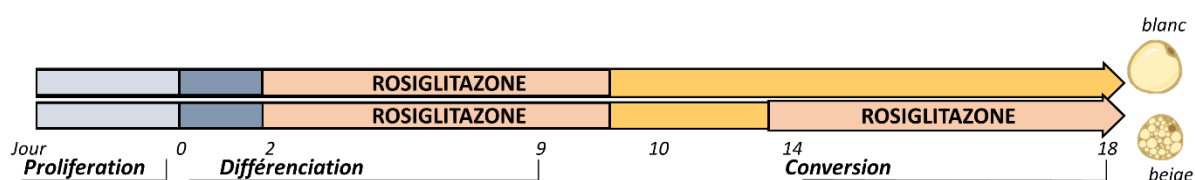
Par la suite, les cellules hMADS sont maintenues dans un milieu sans sérum et avec un mélange d'inducteurs pour démarrer le programme de différenciation adipocytaire. Toute la différenciation se fait en présence d'insuline, de transferrine et de T3. Durant l'engagement adipocytaire, soit les premiers jours de culture sans sérum, un mélange d'inducteurs est ajouté, contenant des glucocorticoïdes (dexaméthasone), un inhibiteur des phosphodiesterases (3-isobutyl-1-méthylxanthine ou IBMX). Après deux jours, le mélange d'inducteurs est complété par un agoniste de PPAR $\gamma$ , la rosiglitazone. L'IBMX et la dexaméthasone sont retirés au jour 4. La rosiglitazone est maintenue du jour 2 au jour 9. Cela entraîne la formation de gouttelettes lipidiques intracellulaires et la différenciation des cellules hMADS en adipocytes blancs exprimant les marqueurs caractéristiques comme la FASN, l'ATGL (**Figure 30**). Ces cellules possèdent aussi un système de transport du glucose stimulé par l'insuline (GLUT4) et sont capables de sécréter la leptine et l'adiponectine (Rodriguez et al., 2004).



***Figure 30: Morphologie des cellules hMADS pendant la différenciation adipocytaire***

Différenciation des cellules hMADS en adipocytes thermogéniques et conversion PPAR $\gamma$  est essentiel à la différenciation adipocytaire mais aussi pour l'acquisition des capacités thermogéniques. De ce fait, les cellules hMADS peuvent directement se différencier en adipocytes thermogéniques fonctionnels avec un traitement continu avec la rosiglitazone du jour 2 au jour 18. Cette différenciation directe en adipocyte thermogénique s'accompagne de l'induction de l'expression des marqueurs comme UCP1, CPT1M, CIDEA, PGC1 $\alpha$  et ELOVL3 ainsi que d'une augmentation de l'activité mitochondriale et de la consommation d'oxygène (Elabd et al., 2009).

Les cellules hMADS proviennent d'un dépôt de TA blanc. Ainsi, elles peuvent aussi être utilisées pour étudier le processus de conversion de l'adipocyte blanc en adipocyte beige (**Figure 31**). Pour ce faire, le traitement à la rosiglitazone est réalisé du jour 2 au jour 9 pour induire la différenciation en adipocytes blancs. Un nouveau traitement du jour 14 au jour 18, est nécessaire pour induire la conversion des adipocytes blancs en adipocytes beiges/brites (Elabd et al., 2009; Pisani et al., 2011). D'autres inducteurs de la trans-différenciation des adipocytes hMADS blancs en beiges ont toutefois été décrits, notamment la PGI2 ou prostacycline (Ghandour et al., 2016; Colson et al., 2023). Ses effets passent en partie par l'activation de PPAR $\gamma$ . Cette conversion peut également être induite par le GW7647, un agoniste de PPAR $\alpha$  mais en utilisant des concentrations plus élevées que la rosiglitazone (Barquissau et al., 2016). A ces concentrations, on peut émettre l'hypothèse que le GW7647 active également PPAR $\gamma$ . Notons enfin que les adipocytes hMADS peuvent aussi simuler le phénomène inverse, à savoir la perte du phénotype thermogénique, en retirant la rosiglitazone tout en maintenant le reste du milieu adipogénique (Colson et al., 2020). J'ai contribué à la mise en évidence d'un nouveau rôle pour l'acide carnosique. Il inhibe l'adipogenèse mais est également inhibiteur du brunissement par son action antagoniste de PPAR $\gamma$ . Ces résultats sont présentés en **Annexe 2**. Ce phénomène est qualifié de blanchiment. Un traitement par exemple par des acides gras comme l'acide arachidonique permet le blanchiment des adipocytes hMADS beiges (Ghandour et al., 2018).



**Figure 31: Protocole de différenciation des cellules hMADS en adipocytes blancs et beiges**

Les cellules hMADS sont ensemencées à une forte densité pour permettre leur prolifération en présence du FGF2 et de sérum. Proche de la confluence cellulaire, le FGF est retiré. La différenciation adipocytaire se fait dans un milieu sans sérum, initié par la dexaméthasone, l'IBMX et la rosiglitazone. Cet agoniste de PPAR $\gamma$  est maintenu du jour 2 au jour 9 pour une différenciation en adipocyte blanc. La conversion de ces derniers en adipocytes beiges peut être réalisée par un second traitement à la rosiglitazone du jour 14 au jour 18.

## Avantages et inconvénients des cellules hMADS

Il existe plusieurs modèles *in vitro* d'adipogenèse brune (lignée ou cellules primaires, Dufau et al., 2021). Cependant, nombre d'entre eux proviennent de cellules murines, parfois transformées, immortalisées ou tumorales. Ce n'est pas le cas des cellules hMADS ou des cellules SGBS (Tews et al., 2020 ; Yeo et al., 2017). Par ailleurs, ces cellules conservent une bonne capacité de différenciation après plusieurs passages. Les différences d'expressions géniques et d'analyses fonctionnelles entre les adipocytes blancs et beiges sont importantes. De plus, le pourcentage de différenciation des cellules hMADS est important. Cependant, morphologiquement (en microscopie optique du moins), il n'a pas de différences entre les adipocytes hMADS blancs et beiges, sans doute en lien avec la simple culture en deux dimensions sur plastique. Une culture en 3D ou sur un support mimant la rigidité de la matrice extra-cellulaire pourrait mieux simuler les contraintes mécaniques subies par les adipocytes.

## Thermogenèse

Il existe plusieurs stratégies de gestion de la température corporelle. Les organismes ectothermes ne produisent pas ou peu de chaleur pour maintenir leur corps à une température constante. Leur température interne est donc directement reliée à la température de leur environnement. De plus, la gestion de leur température repose principalement sur des adaptations comportementales. En revanche, chez les organismes endothermes, la température corporelle est maintenue constante grâce à un ensemble de mécanismes de contrôle que l'on appelle thermogenèse dans le cas de la production de chaleur avec ou sans frisson, ou thermolyse, pour la dissipation de chaleur.

Lors d'une exposition au froid, les premiers mécanismes mis en place permettent de limiter les pertes thermiques par adaptations comportementales ou physiologiques (vasoconstriction) (Nakamura and Morrison, 2008). Par la suite, si ces mécanismes s'avèrent être insuffisants pour maintenir la température corporelle, des adaptations métaboliques se mettent en place pour augmenter la production de chaleur. On parle de thermogenèse.

Chez les organismes endothermes exposés brièvement au froid, la thermogenèse repose principalement sur les contractions asynchrones des muscles squelettiques antagonistes. Ce frissonnement ne génère pas de mouvements volontaires, mais stimule les processus oxydatifs. En conséquence, il y a une augmentation de la consommation d'ATP (adénosine

triphosphate) ainsi qu'une resynthèse accrue d'ATP, ce qui contribue à générer de la chaleur. Cependant, les muscles ont des ressources énergétiques limitées pour la thermogénèse frissonnante. De plus, les contractions perturbent la mobilité. Ainsi, la thermogénèse frissonnante est progressivement remplacée par la thermogénèse sans frisson lors d'une exposition prolongée au froid (Haman et al., 2010; van Ooijen et al., 2005). Le seuil de mise en place de la thermogénèse sans frisson est variable d'un individu à l'autre, et dépend notamment de l'âge, du sexe et de l'état de santé. L'importante capacité thermogénique du TA brun est due à sa densité en mitochondrie au sein des adipocytes bruns.

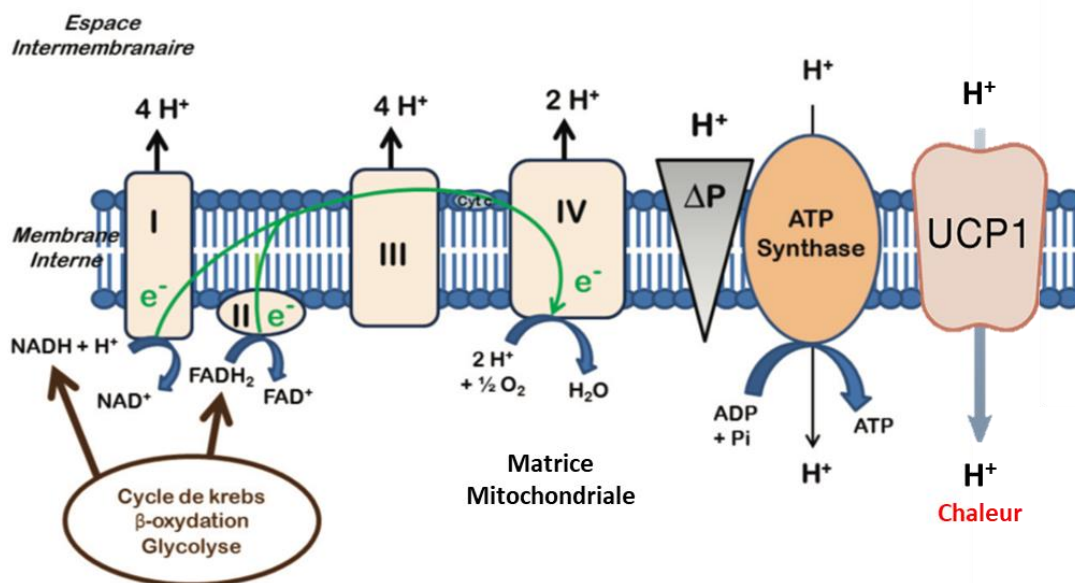
### Découplage de la respiration mitochondriale

La mitochondrie est l'organelle de production d'énergie sous forme d'ATP. Elle est constituée d'une double membrane. La membrane interne se distingue par sa faible perméabilité aux protons et son contenu en protéines spécifique. Un gradient électrochimique est ainsi créé. Ce dernier peut être dissipé sous forme de chaleur grâce à la protéine UCP1, indépendamment de la synthèse d'ATP. Dans ce cas, on parle de découplage de la respiration de la mitochondrie.

Les adipocytes bruns produisent de la chaleur en consommant de l'oxygène et divers nutriments tels que le glucose, les AG et les acides aminés. La capture et la métabolisation de ces substrats par la glycolyse, le cycle de Krebs ou la  $\beta$ -oxydation permet la synthèse de coenzymes réduits tels que NADH, H<sup>+</sup> et FADH<sub>2</sub>. Ces intermédiaires, vont, dans les mitochondries, céder leurs deux électrons à un système de transporteurs jusqu'à l'accepteur final d'électrons, l'oxygène moléculaire, par une cascade de réactions d'oxydoréduction. Ce système de transport d'électrons est composé de 5 complexes. Le complexe I (NADH deshydrogenase), le complexe II (succinate deshydrogenase), le complexe III (ubiquinol cytochrome c oxidoreductase), et le complexe IV (cytochrome oxidase) et le complexe V (ATP synthase). Le passage d'un complexe à l'autre de la chaîne respiratoire est lié à l'évacuation de protons dans l'espace intermembranaire. La perméabilité de la membrane interne aux protons étant très faible, les protons s'accumulent entre les deux membranes mitochondriales formant un gradient électrochimique. Ce gradient est utilisé par l'ATP synthase (complexe V) pour phosphoryler l'Adénosine Di Phosphate (ADP) afin de produire

l'ATP. Dans ce cas où la respiration mitochondriale est couplée à la synthèse d'ATP, on parle de phosphorylation oxydative (Brown, 1992).

Cependant, la protéine UCP1 au sein des mitochondries des adipocytes bruns peut aussi transférer les protons vers la matrice. La synthèse d'ATP est alors court-circuitée. On parle de découplage mitochondrial (**Figure 32**). Notons aussi qu'il existe des fuites de protons mais leurs contributions à la thermogénèse adaptative sont négligeables. Enfin, le gradient électrochimique est utilisé par d'autres transporteurs de la membrane interne pour importer du phosphate, du glutamate, du pyruvate ou de l'ADP dans la matrice mitochondriale.



**Figure 32: Découplage de la respiration mitochondriale**

Le cycle de Krebs, la β-oxydation, et la glycolyse permettent la synthèse de NADH,H+ (Nicotinamide adénine dinucléotide H, H+) et FADH<sub>2</sub> (Flavine adénine dinucléotide H<sub>2</sub>). Ces intermédiaires sont nécessaires au fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle est composée de quatre complexes établissant le gradient de protons, associés à l'ATP synthase qui utilise ce gradient. UCP1 permet court-circuité la chaîne respiratoire, ne générant pas d'ATP mais de la chaleur.

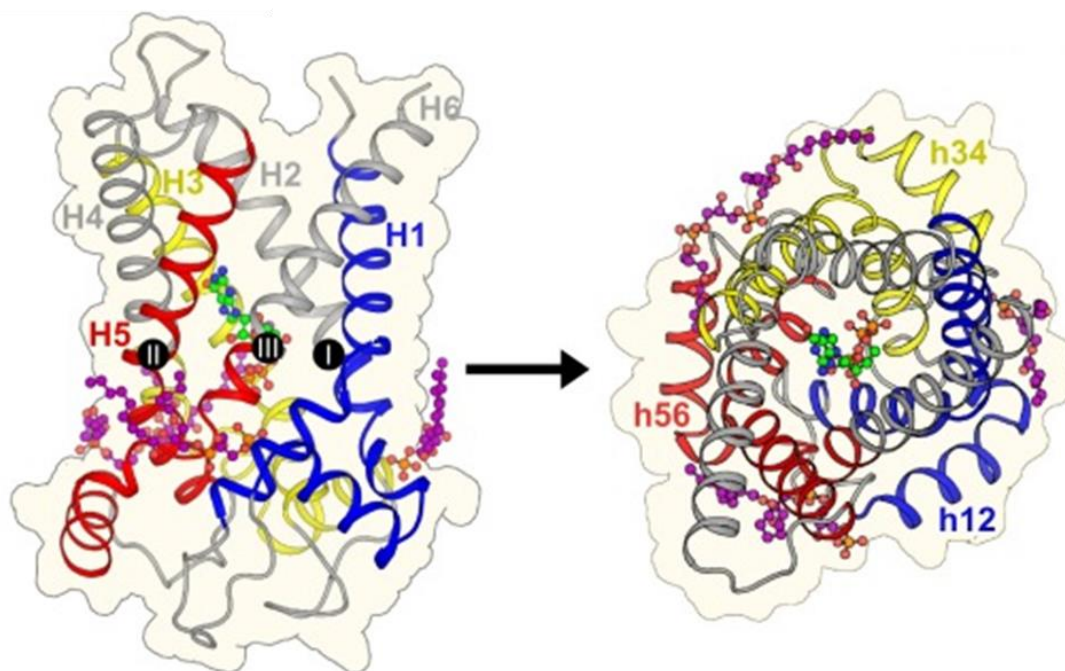
### La protéine découplante UCP1

La protéine UCP1, aussi appelée thermogénine, permet la dissipation de la chaleur par les adipocytes thermogéniques. Elle a été découverte en 1976 par David G. Nicholls, Vibeke Bernson et Gillian Heaton, a ensuite été purifiée pour la première fois en 1980 et clonée pour la première fois en 1988. En 1982, elle a été décrite dans le TA brun comme étant la seule protéine du tissu dont l'activité et l'expression étaient régulées par la température.

L'activité d'UCP1 est induite par l'exposition au froid des animaux, et retrouve un niveau faible lorsque la température augmente (Ricquier et al., 1982).

Structure de la protéine UCP1

UCP1 est une protéine de 33 kDa appartenant à la super famille des transporteurs mitochondriaux ou SLC25 mitochondrial carrier family (Aquila et al., 1985, Kunji et al., 2020). Ces protéines transportent divers nutriments mais possèdent une structure commune : ce sont des homodimères dont chaque monomère contient deux hélices  $\alpha$  hydrophobes reliées par des segments hydrophiles. Les hélices  $\alpha$  forment ainsi un canal ancré dans la membrane interne mitochondriale (Ruprecht et al., 2021). Les homologues de séquences entre UCP1 et les membres de la famille SLC25 indiquent que la protéine découplante agit également en dimère (Klingenberg et al., 2009). Cependant, il a été démontré que la protéine UCP1 native était monomérique et stabilisée par sa liaison à la cardiolipine, comme d'autres transporteurs de la famille SLC25 (Crichton et al., 2013; Lee et al., 2015).



***Figure 33: Structure de la protéine UCP1***

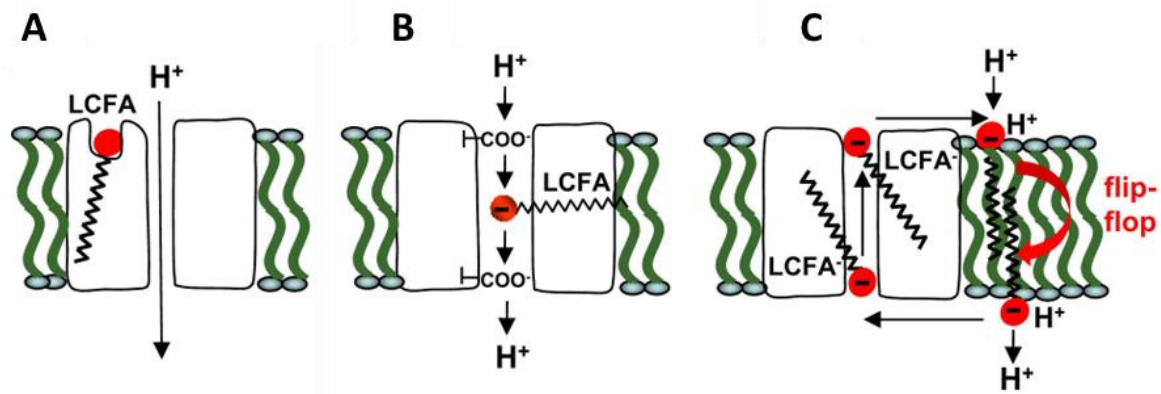
Vue latérale (à gauche) et cytoplasmique (à droite) de la protéine UCP1 liée au GTP lié (vert) et trois molécules de cardiolipine (violet). La liaison du substrat dans le canal mitochondrial se produit au niveau des résidus du point de contact (cercles noirs). D'après (Jones et al., 2024).

Le TA brun et la présence d'UCP1 sont bien documentés chez de nombreux mammifères comme l'homme, les primates non-humains, les rongeurs, le chien, la chèvre (Williams et al., 2023; Ojha et al., 2012; Omach et al., 2008). Cependant, le porc n'exprime pas de protéine UCP1 fonctionnelle. Contrairement à la plupart des gènes UCP1 des mammifères, qui ont 6 exons, le gène UCP1 du porc n'a que 3 exons. Seuls les exons 1 et 2 du gène UCP1 sont transcrits dans le TA porcine et l'ARNm UCP1 tronqué du porc n'est pas traduit (Hou et al., 2017).

#### Activation d'UCP1

La protéine UCP1 joue le rôle d'un canal à protons au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Cependant, les mécanismes précis de ce passage restent débattus, notamment en lien avec la difficulté d'étudier UCP1 dans son environnement natif. UCP1 est généralement étudiée dans des liposomes ou sur des mitochondries isolées. Il est établi que les AG, notamment les AG à longues chaînes, activent UCP1 (Cannon and Nedergaard, 2004; Fedorenko et al., 2012). L'ajout de palmitate sur des mitochondries isolées induit une dépolarisation rapide de la membrane et une augmentation de la respiration (Locke and Nicholls, 1981). On sait également que la présence de certaines nucléotides (ATP, ADP, GDP et GTP) serait inhibitrice (Bast-Habersbrunner and Fromme, 2020). En revanche, il existe plusieurs hypothèses quant aux mécanismes d'action des AG. Les AG pourraient d'abord lever l'inhibition des nucléotides. UCP1 pourrait être un uniporteur à protons dont l'ouverture serait activée par la liaison allostérique des AG. Ils pourraient aussi se lier au pore et fournissent leurs groupes carboxyliques pour compléter la voie de translocation H avec les résidus d'acides aminés comme le glutamate ou l'aspartate, le long des segments transmembranaires. Enfin, les AG pourraient traverser la membrane interne sous forme protonée indépendamment d'UCP1. Une fois dans la matrice, en raison de la différence de pH, les protons se dissocieraient des AG. Une fois dissociés, les AG sous forme anioniques retourneraient dans l'espace intermembranaire grâce à UCP1.





**Figure 34: Modèles de transport des protons par la protéine UCP1**

Plusieurs hypothèses existent quant au passage de protons de l'espace intermembranaire à la matrice mitochondriale. UCP1 pourrait être un canal à protons ouvert par l'activation des AG (A). Les AG pourraient aussi directement faciliter le transport des protons dans le pore (B). Enfin, UCP1 pourrait être un transporteur d'AG type « flip-flop ».

#### Les homologues d'UCP1

Il existe plusieurs homologues d'UCP1. Le premier, UCP2, a été identifié en 1997. Au niveau protéique, l'homologie entre UCP1 et UCP2 est de 59%. Son expression est ubiquitaire au niveau ARNm. Cependant, la protéine UCP2 n'est exprimée que dans la rate, le poumon, l'intestin, l'estomac et le tissu adipeux blanc (Pecqueur et al., 2001). UCP3 possède aussi 57% d'homologie avec UCP1. Elle est majoritairement exprimée dans les muscles squelettiques. Bien qu'assez similaires en termes de structures, UCP2 et UCP3 semblent jouer un rôle négligeable dans la thermogénèse. En effet, l'inhibition d'UCP2 ou d'UCP3 n'induit aucune intolérance au froid (Arsenijevic et al., 2000; Kong et al., 2000). UCP2 serait plutôt un transporteur de métabolite à 4 carbones qu'un acteur du découplage mitochondrial. Cependant, l'expression d'UCP3 est augmentée que chez les porcs tibétains, race résistante au froid (Lin et al., 2017). UCP4 et UCP5 présentent des pourcentages d'homologie à UCP1 bien plus faibles (environ 30%). Leurs rôles ne sont pas encore élucidés. Cependant, elles sont essentiellement présentes au niveau du système nerveux central où leur expression est augmentée par le froid (Yu et al., 2000; Bouillaud et al., 2016). Notons aussi que les oiseaux et les plantes possèdent des homologues des protéines découplantes (Raimbault et al., 2001; Laloi et al., 1997; Sweetlove et al., 2006).

## Régulation transcriptionnelle d'Ucp1

En plus des régulations de son activité, la transcription du gène Ucp1 est finement régulée. Le promoteur de son gène présente deux régions non codantes mais essentielle à la modulation de la transcription, un promoteur proximal proche du début de la transcription et un complexe amplificateur distal. Ces deux régions contiennent les éléments de réponse aux inducteurs (**Figure 35**).

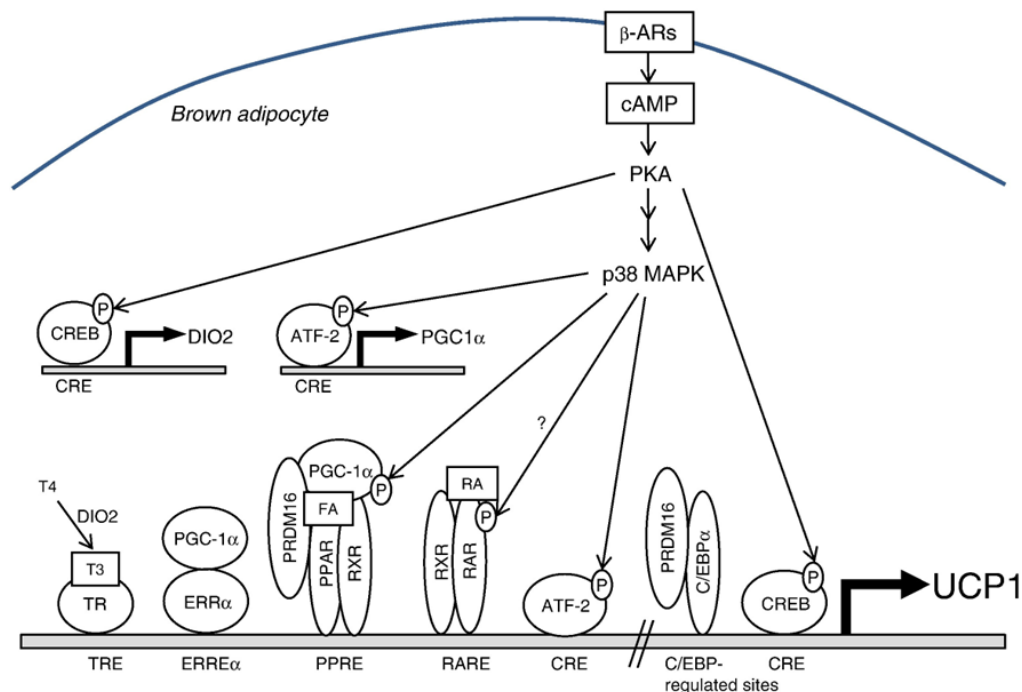
L'activation de la thermogenèse via l'induction de la transcription d'UCP1 est principalement sous le contrôle du système nerveux sympathique. En effet, lors d'une exposition au froid, la baisse de la température est détectée par le système nerveux central, activant le système nerveux sympathique qui sécrète de la noradrénaline. Un traitement chronique avec de la noradrénaline induit la thermogenèse chez les rongeurs (Leblanc and Pouliot, 1964; Mory et al., 1984). De plus, la dénervation du TA brun ou l'invalidation des enzymes de synthèse des catécholamines comme la tyrosine-hydroxylase (TH) inhibe la thermogenèse du TA brun (Blaszkiwicz et al., 2019). La noradrénaline interagit avec les récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  adrénergiques à la surface des adipocytes bruns. Chez la souris, c'est le récepteur adrénergique  $\beta_3$  (ADRB3) qui est majoritairement responsable de l'activation de la thermogenèse en cas d'exposition au froid (Champigny et al., 1992; Ricquier et al., 1986). Chez l'homme, bien qu'ADRB3 soit couplé à une protéine Gs qui active l'adénylate cyclase, augmentant ainsi la concentration intracellulaire d'AMPc, ses niveaux d'expressions sont inférieurs à ADRB2 et ADRB1. De même, le traitement avec un agoniste d'ADRB3 (mirabegron) augmente l'activité du TA brun humain et l'import de glucose, mais uniquement à de fortes doses (200 mg) (Baskin et al., 2018 ; Blondin et al., 2020). Il semble que la thermogenèse du TA brun humain soit dépendante d'ADRB2 (Blondin et al., 2020). Comme dans le TA blanc, l'AMPc induit la lipolyse via l'activation de la PKA. Les AG vont aussi agir comme activateurs d'UCP1 et comme substrats énergétiques pour la mitochondrie.

L'activation de la PKA va également induire la transcription d'UCP1 par phosphorylation du facteur de transcription CREB, dont un élément de réponse est présent sur le promoteur du gène UCP1 (Bonet et al., 2013).

L'activation de la PKA va également induire la voie p38MAPK. Lorsqu'elle est activée, la p38MAPK peut phosphoryler le facteur de transcription ATF-2, qui se fixe sur les promoteurs d'UCP1 et de PGC1 $\alpha$  au niveau de l'élément de réponse CRE. La biogenèse des adipocytes brun est donc aussi augmentée lors de l'induction de la thermogénèse.

Par ailleurs, PGC1 $\alpha$  est un co-activateur du complexe PPAR/RXR qui active l'expression d'UCP1 par liaison sur un PPRE présent sur le complexe distal du promoteur UCP1. L'acide rétinoïque peut à la fois se lier sur son récepteur RAR et sur les PPARs, et activer les deux hétérodimères PPAR/RXR et RAR/RXR qui vont se fixer à leurs éléments de réponse respectifs, PPRE et RARE.

PRDM16, protéine essentielle à la différenciation en adipocyte brun, module aussi l'activité de plusieurs complexes transcriptionnels d'UCP1. En effet, PRDM16 interagit avec le complexe PPAR/PGC1 $\alpha$  pour renforcer son activité transcriptionnelle. Il se lie aussi à C/EBP $\alpha$  au niveau du promoteur proximal d'UCP1.



**Figure 35: Contrôle de l'expression d'Ucp1 au niveau de son promoteur**

L'activation de la voie  $\beta$ -adrénergique par la noradrénaline active l'adenylyl-cyclase et augmente donc la production d'AMP cyclique (AMPC). Aussi, les peptides natriurétiques (NP), via leur liaison à leurs récepteurs actifs respectifs activent la guanylate cyclase, augmentant ainsi les niveaux de GMP cyclique (GMPc). En conséquence, la PKA et la PKG activent la lipolyse et le programme thermogénique pour induire la transcription d'Ucp1. D'après (Bonet et al., 2017).

En complément de la signalisation  $\beta$ -adrénergique, les hormones thyroïdiennes sont nécessaires pour une thermogénèse optimale. En effet, l'exposition au froid augmente les niveaux circulants d'hormones thyroïdiennes. Les niveaux intracellulaires de ces hormones sont contrôlés par DIO1 (déiodinase, iodothyronine, type 1) et DIO2 qui catalysent la conversion de la thyroxine tétraiodothyronine (T4), peu active, en triiodothyronine (T3), sa forme active (Bianco et al., 2006). Chez la souris, la délétion de DIO2 induit une réduction de l'adipogénèse et de la thermogénèse (Christoffolete et al., 2004; Hall et al., 2010). Dans l'adipocyte brun, la PKA induit la transcription de la DIO2 via l'activation de CREB, augmentant les niveaux intracellulaires de T3. La forme active peut alors se lier au récepteur nucléaire aux hormones thyroïdiennes (TR) et induire l'expression d'UCP1 via la liaison du TR à l'élément de réponse aux hormones thyroïdiennes (TRE) et la biogénèse mitochondriale via PGC1 $\alpha$  (Bianco and McAninch, 2013; Wulf et al., 2008; Yau et al., 2019). Chez l'homme, l'hyperthyroïdisme entraîne une augmentation de l'activité du TA brun. (Lahesmaa et al., 2014).

D'autres signaux provenant d'autres organes peuvent activer le TA thermogénique (**Figure 36**), c'est le cas par exemple des peptides natriurétiques, du Fibroblast growth factor 21 (FGF21) hépatique ou encore de certaines myokines, ou même de certains micro-ARNs (Ma et al., 2022).

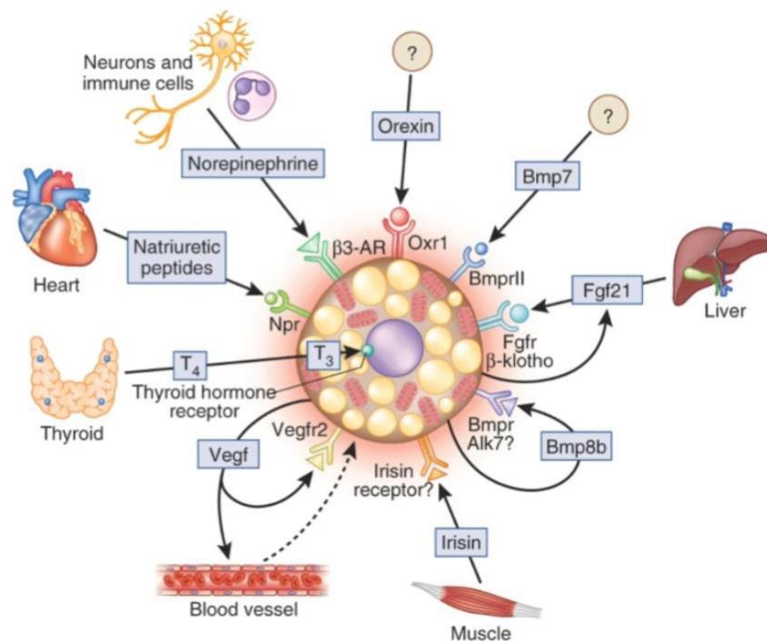
Les peptides natriurétiques regroupent plusieurs hormones principalement cardiaques impliquées dans la régulation de l'excrétion de l'eau et du sodium, le contrôle de la pression artérielle et du débit cardiaque. Le peptide natriurétique auriculaire (atrial natriuretic peptide, ANP) et le peptide natriurétique de type B (BNP) sont sécrétés par les cardiomyocytes dans la circulation en réponse à l'étirement du myocarde. Ils agissent via des récepteurs spécifiques, NPR-A et NPR-B qui sont des récepteurs liés à la guanylyl cyclase. Ces peptides cardiaques peuvent aussi agir au niveau du TA. Ils régulent en effet la lipolyse, indépendamment de l'activation de la PKA. La liaison de l'ANP et du BNP à leurs récepteurs membranaires dotés d'une activité guanylyl cyclase induit la production de GMP cyclique pour activer la PKG qui phosphoryle HSL (Lafontan et al., 2008). Les peptides natriurétiques peuvent également activer la fonction thermogénique. L'ANP augmente l'expression de marqueurs thermogéniques et la biogénèse mitochondriale dans un modèle d'adipocyte humain (les cellules hMADS pour Human multipotent adipose-derived stem). Cette

activation est dépendante de deux kinases, la PKG et la p38 MAPK. De plus, elle se fait en parallèle de l'activation de la PKA et de la signalisation  $\beta$ 3-adrénergique. Enfin, in vivo chez la souris, la perfusion de BNP augmente la consommation d'oxygène, la dépense énergétique et l'expression des marqueurs thermogéniques dans le TA blanc et brun (Bordicchia et al., 2012).

Les sécrétions musculaires induites par l'exercice physique peuvent aussi activer la fonction thermogénique. La surexpression de PGC1 $\alpha$  spécifiquement dans le muscle induit le brunissement du TA blanc grâce à l'irisine (Boström et al., 2012; Chen et al., 2021). Il s'agit d'une hormone musculaire, issue de la transcription, la traduction et le clivage de la fibronectin type III domain containing 5 (FNDC5). D'abord identifié chez la souris, l'irisine reste difficilement détectable chez l'homme et son niveau circulant n'est pas systématiquement augmenté par l'exercice (Pekkala et al., 2013; Lee et al., 2014; Mendez-Gutierrez et al., 2023). Notons que l'effet de l'irisine est associé à l'activation de la p38 MAPK (Zhang et al., 2014). En revanche, l'irisine inhibe l'adipogenèse et favorise l'ostéogenèse (Zhang et al., 2016). L'acide  $\beta$ -aminoisobutyrique (BAIBA), dont l'expression est contrôlée par PGC1 $\alpha$ , est une autre myokine qui induit le brunissement de TA blanc ainsi que la  $\beta$ -oxydation hépatique (Roberts et al., 2014). On peut également citer la Meteorin-like (MTRNL) dont la sécrétion est induite par le froid dans le TA ou l'exercice dans le muscle (Rao et al., 2014). La MTRNL augmente la dépense énergétique, améliore la tolérance au glucose. Dans le TA blanc, elle induit l'expression de gènes associés à la thermogenèse et aux cytokines anti-inflammatoires. Ces modifications d'expressions géniques reposent sur la stimulation des éosinophiles favorisant l'activation des macrophages alternatifs du TA. Les niveaux de MTRNL sont aussi positivement corrélés à l'activité du TA brun (Garcia-Beltran et al., 2023). D'autres études ont, depuis, confirmé l'importance des cellules immunitaires dans la fonction thermogénique (Wolf et al., 2017; Gallerand et al., 2021; Bertola et al., 2022). Par exemple, l'ablation des ganglions lymphatiques du TA blanc inhibe le brunissement de ce dernier (Yuan et al., 2024).

Les bénéfices de l'exercice physique sur le métabolisme du TA brun peuvent aussi être transmis durant la gestation. En effet, chez la souris, l'exercice physique pendant la gestation améliore l'adipogenèse brune et prévient le dysfonctionnement métabolique chez la

progéniture. Ces améliorations sont associées à une augmentation des niveaux d'apéline dans le TA brun et au niveau sérique. L'exercice maternel ou la supplémentation en apéline induit l'hypométhylation de l'ADN au niveau du promoteur Prdm16 (Son et al., 2020).



**Figure 36: Facteurs circulants et activation thermogénique**

D'après (Harms et Seale, 2013).

### Régulations post-traductionnelles d'UCP1

En plus de la modulation de l'activité au niveau du son promoteur, UCP1 peut être régulé au niveau post-traductionnel. La sulfénylation de la Cys253 permet d'activer la protéine UCP1 lors d'une exposition au froid grâce aux espèces réactives de l'oxygène provenant de la mitochondrie (Chouchani et al., 2016). En revanche, la succinylation d'UCP1 réduit sa stabilité et son activité chez les souris délétées pour Sirt5 (Wang et al., 2019).

### Le rôle de PPARα dans l'activation du TA thermogénique

Données reposant sur des modèles de délétion de PPARα

Le rôle de PPARα dans la fonction thermogénique reste discuté. PPARα est fortement exprimé dans plusieurs tissus comme le TA brun, le foie, le muscle cardiaque et squelettique ou encore l'intestin (Escher et al., 2001). PPARα est un régulateur principal du métabolisme des lipides dans le foie lors de challenges nutritionnels comme le jeûne ou le régime riche en graisse. L'importance de PPARα hépatique repose sur les phénotypes retrouvés à la fois chez la souris PPARα<sup>-/-</sup> et la souris délétée pour PPARα spécifiquement dans le foie. Ces deux

modèles de délétions présentent, en cas de jeûne, une hypoglycémie, une hypocétonémie, un taux circulant élevé d'AG libres et une stéatose hépatique (Kersten et al., 1999, Leone et al., 1999; Montagner et al., 2016). Notons cependant que l'induction des gènes de l'oxydation des AG induite par le jeûne est également réduite dans le muscle cardiaque des souris PPAR $\alpha$  -/- (Leone et al., 1999).

Parmi les PPARs, il est clair que l'isotype  $\alpha$  est la plus exprimée dans le foie (Montagner et al., 2016). PPAR $\alpha$  est relativement peu exprimé dans le TA blanc (Shen et al., 2020). Son expression dans ce dépôt, est augmentée par l'exposition au froid ou la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique par le CL316,243 (Barquissau et al., 2016; Egusa et al., 2023; Defour et al., 2018). Cependant, la souris PPAR $\alpha$  -/- ne souffre que d'une intolérance au froid transitoire, et une exposition chronique induit les mêmes changements d'expression géniques dans le TA blanc que chez la souris contrôle (Defour et al., 2018). Notons cependant que l'hypoglycémie et l'hypothermie induites par le jeûne sont plus marquées chez la souris Ppar $\alpha$ -/- comparée à la souris délétée pour PPAR $\alpha$  uniquement dans le foie, indiquant que PPAR $\alpha$  extrahépatique participe tout de même à l'homéostasie glucidique et la régulation de la température (Montagner et al., 2016). La délétion de PPAR $\alpha$  dans le TA de souris mâles nourries avec un régime riche en graisse induit une activation de SREBP1 et de ses cibles FASN et SCD1, et une augmentation du marqueur inflammatoire NOS2 (Hinds et al., 2021). Cependant, la fonction thermogénique ainsi que le TA brun n'ont pas été étudiés dans cette étude. Dans une autre étude analysant le même modèle de délétion, l'expression de PPAR $\alpha$  est nettement réduite dans le TA brun, et pas dans le foie. L'expression d'autres marqueurs adipogéniques ou thermogéniques n'est pas modifiée. Par ailleurs, la morphologie du TA brun de ces souris est normale, tout comme leur tolérance au froid ou encore leurs niveaux protéiques d'UCP1 ou des composants de la chaîne respiratoire (Shen et al., 2020). En revanche, PPAR $\alpha$  est capable d'interagir avec PRDM16 pour induire l'expression d'UCP1. De plus, *in vitro* dans des adipocytes blancs humains (cellules SGBS), la surexpression de PPAR $\alpha$  induit l'expression de gènes mitochondriaux et thermogéniques (Hondares et al., 2011). Notons cependant qu'après traitement au CL316,343, la souris PPAR $\alpha$  -/- voit le brunissement de son TA blanc diminuée par rapport aux souris contrôles. Cette diminution étant observée aussi bien à thermoneutralité qu'à 22°C (Barquissau et al., 2016). *In vitro*, l'inhibition de PPAR $\alpha$  par des petits ARN interférents (siRNA) dans des adipocytes bruns de souris ne modifie pas la consommation d'oxygène, y compris en présence d'isoprotérénol.

Ainsi, PPAR $\alpha$  au sein du TA brun ne semble pas nécessaire pour maintenir la fonction des adipocytes bruns. Cette hypothèse est confirmée par l'utilisation de la souris Ucp1-cre. La délétion de PPAR $\alpha$  sous le contrôle du promoteur d'UCP1 ne modifie pas l'expression des marqueurs thermogéniques dans ce tissu, ni la consommation d'oxygène ou le quotient respiratoire pour des souris nourries en régime standard et maintenues à 22°C (Lasar et al., 2018).

Données reposant sur l'activation pharmacologique de PPAR $\alpha$

L'activation pharmacologique de PPAR $\alpha$  par le GW7647 ou le Wy 14,643 améliore l'expression du gène PGC1 $\alpha$  dans les adipocytes bruns (Hondares et al., 2011). Les fibrates sont des ligands synthétiques de PPAR $\alpha$  prescrits pour le traitement de l'hypertriglycéridémie et d'autres dyslipémies. Certaines de ces molécules semblent augmenter la capacité thermogénique du TA blanc. On peut notamment citer le fénofibrate ou le pémafibrate. Le fénofibrate, apporté dans l'alimentation à environ 0,1% induit une perte de poids associée à l'augmentation de marqueurs thermogéniques comme Ucp1, Prdm16 ou Pgc1 $\alpha$  dans le TA blanc ou le TA brun (Rachid et al., 2015; Rachid et al., 2015b). Cependant, *in vitro*, le fénofibrate est incapable d'induire l'expression de marqueurs thermogéniques dans les cellules hMADS différenciées en adipocytes. De plus, les effets bénéfiques du fénofibrate sont en partie dépendants du FGF21. En effet, chez les souris contrôles, mais pas chez les souris déficientes en FGF21, le fénofibrate augmente l'expression d'Ucp1 et de Pgc1 $\alpha$  dans le TA blanc, ainsi que la dépense énergétique (Goto et al., 2016). *In vitro*, cet effet du FGF1 peut être simulé. En effet, l'activation de PPAR $\gamma$ , seule par des agonistes synthétiques, est suffisante pour induire la conversion d'adipocytes blancs en adipocytes thermogéniques *in vitro*, mais l'activation simultanée de PPAR $\alpha$  et de PPAR $\gamma$  par des "dual-agonists" ont des effets synergiques *in vivo* grâce au FGF21 (Kroon et al., 2020; Miranda et al. 2024). L'idée dernière le développement de ces dual-agonistes serait de bénéficier des effets bénéfiques de l'activation de PPAR $\alpha$  et de PPAR $\gamma$ , tout en évitant les effets indésirables notamment liés à une trop forte activation de PPAR $\gamma$  (**Figure 37**). Cette synergie est mimée par le traitement simultané avec de la rosiglitazone et du FGF21. Cette synergie *in vivo* pourrait aussi être médiée en partie par les effets du FGF21 au niveau central en activant le système nerveux sympathique (Owen et al., 2014; Douris et al., 2015).



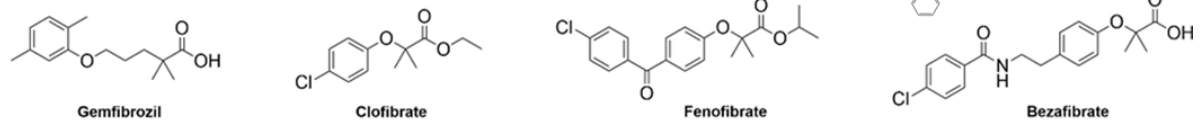
L'utilisation clinique de ces doubles agonistes représente une piste d'étude dans le traitement de l'obésité et des pathologies associées. Cependant, leur développement est rendu complexe par la forte similarité structurale des PPARs. Il a notamment été montré par ChIP-seq, que PPAR $\alpha$  et PPAR $\gamma$  partagent la grande majorité de leurs sites de liaison génomique (Shen et al., 2020). Chez la souris, l'utilisation d'agonistes spécifiques de PPAR $\alpha$  (fénofibrate) ou de PPAR $\gamma$  (rosiglitazone) induit l'expression de gènes propres à chaque agoniste. En revanche, de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme du TA thermogénique sont induits à la fois par le fénofibrate et la rosiglitazone. Par ailleurs, le développement de plusieurs de ces doubles agonistes a été stoppé en raison d'effets indésirables notamment au niveau cardiaque (Kalliora et al., 2019). De même, le traitement simultané avec de la rosiglitazone et du FGF21 fut envisagé. Là encore, cette piste a été abandonnée car plusieurs agonistes de PPAR $\gamma$  comme la rosiglitazone ou la pioglitazone, présentent une balance bénéfices/risques peu intéressante associée notamment à des œdèmes, une prise de poids ou des risques cardiaques (Choi et al., 2014; Ko et al., 2017).

Tout récemment, la valorisation de sous-produits issus de la coque de noix de cajou a permis l'identification de dérivés de l'acide anacardique et du cardanol comme étant des dual-agonistes de PPAR $\alpha$  et PPAR $\gamma$  (Sahin et al., 2022). Un de ces lipides nouvellement identifiés, le LDT409, protège contre l'hyperlipidémie et l'intolérance au glucose et à l'insuline chez les souris nourries en régime riche en graisse. Chez ces mêmes souris, le LDT409 augmente également aussi les capacités thermogéniques du TA et diminue la stéatose hépatique (Sahin et al., 2024).

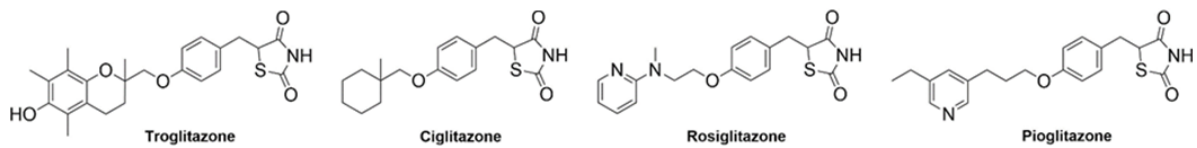
Ces dernières années, le concept de modulateur spécifique de PPAR $\alpha$ , ou selective PPAR $\alpha$  modulator (SPPARM $\alpha$ ) a été développé. Le pémafibrate possède une très forte affinité pour PPAR $\alpha$  (K<sub>D</sub> de 7 nM). Cette molécule est déjà utilisée en clinique pour traiter la dyslipidémie. Comme le fénofibrate, le pémafibrate freine la prise de poids induite par un régime riche en graisse, diminue les taux circulants de glucose, d'insuline et de TG. Ces effets bénéfiques passent par l'action du FGF21. En effet, l'augmentation de l'expression d'Ucp1 dans le TA blanc et d'Elovl3 dans le TA brun n'est pas retrouvée chez la souris délétée pour le FGF21. Par rapport au fénofibrate, les effets bénéfiques du pémafibrate sont obtenus à des doses bien plus faibles confirmant ainsi sa meilleure affinité (Araki et al., 2018). Le pémafibrate

permet aussi de maintenir la capacité thermogénique du TA blanc après l'arrêt de la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique par le CL316,243 (Egusa et al., 2023).

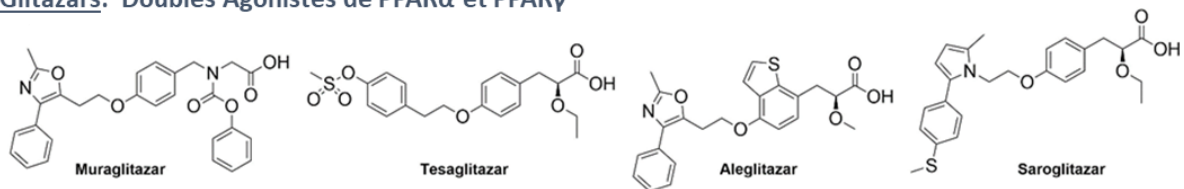
### **Fibrates: Agonistes spécifiques de PPAR $\alpha$**



### **Thiazolidinediones (TZDs): Agonistes spécifiques de PPAR $\gamma$**



### **Glitazars: Doubles Agonistes de PPAR $\alpha$ et PPAR $\gamma$**



**Figure 37: Les différents agonistes de PPAR $\alpha$  et de PPAR $\gamma$**

Adapté d'après (Sahin et al., 2022).

## D) Métabolisme du tissu adipeux brun

### Métabolisme des lipides

Le TA brun fait partie intégrante de l'organe adipeux. Il est donc également capable de stocker, dans une moindre mesure que le TA blanc, et libérer l'énergie sous forme de lipides en fonction des besoins. Les bases du transport de nutriments vers l'adipocyte, la lipogenèse de novo et la lipolyse sont communes à l'adipocyte blanc et l'adipocytes bruns. Ses mécanismes ont été développées dans la partie « fonctions de l'adipocyte blanc ». Cependant, dans le TA brun, l'utilisation des nutriments, notamment les lipides pour la production de chaleur, implique de spécificités métabolique propres au TA brun.

Les lipides sont généralement considérés comme le substrat principal pour le découplage de la respiration dans le TA brun, bien que ce tissu soit capable de consommer de nombreux autres substrats. Lorsqu'il est stimulé, le TA brun peut utiliser à la fois les TG intracellulaires,

facilement accessibles puisque contenus au sein de gouttelettes multiloculaires, ainsi que d'autres substrats lipidiques d'autres tissus qui parviennent au TA brun via la circulation. Notons que les AG servent non seulement de carburants, mais agissent également comme activateurs de la thermogénèse via leur action directe sur UCP1 ou les PPARs par exemple.

Une courte exposition au froid diminue le contenu en lipides du TA brun à cause de l'augmentation de la lipolyse. Celle-ci est largement documentée chez les rongeurs. Chez l'homme, des études de traçages métaboliques et de microdialyses ont confirmé que l'exposition au froid augmente la lipolyse et la libération de glycérol dans le TA brun. Dans les modèles animaux, la diminution de la teneur relative en lipides est facilement observable par histologie. Des études *in vitro* et *in vivo* chez la souris indiquent clairement que la lipolyse intracellulaire des TG permet la fonction thermogénique (Labbé et al., 2015; Li et al., 2014). En effet, l'inhibition de la lipolyse intracellulaire des TG par l'acide nicotinique (NiAc) bloque le transport des AG et du glucose induit par le froid. Aussi, l'administration orale de NiAc réduit aussi la fonction thermogénique du TA brun chez la souris et chez l'homme. La lipolyse spécifique du TA brun peut aussi être estimée via la quantification du glycérol par microdialyse. Ce produit de la lipolyse peut être exporté hors de l'adipocyte par l'aquaporine 7 (AQP7). Cependant, contrairement au TA blanc, le TA brun exprime des niveaux importants de glycérol kinase (GK) qui permet de recycler une partie du glycérol. La GYK permet la conversion du glycérol en G3P afin de reformer des TG par estérification des AG. L'expression de la GYK est corrélée positivement à celle d'UCP1 (Weir et al., 2018; Lasar et al., 2018). Cependant, la contribution de la lipolyse du TA brun par rapport à celle du TA blanc reste discutée. En effet, diverses études sur des souris déficientes en ATGL ou HSL dans divers dépôts de TA semblent suggérer que la lipolyse du TA brun n'est pas nécessaire contrairement à celle du TA blanc (Haemmerle et al., 2002; Ahmadian et al., 2011; Schoiswohl et al., 2015). Chez la souris délétée pour ATGL uniquement dans le TA brun, la thermogénèse au sein de ce dépôt est normale bien que ce tissu présente clairement un blanchiment au niveau morphologique. En revanche, une inhibition d'ATGL dans tout le TA induit une intolérance au froid (Schreiber et al., 2017). De même, la souris délétée pour CGI-58 dans tout le TA est intolérante au froid contrairement à la souris délétée pour CGI-58 seulement dans le TA brun. Cette dernière voit en effet la capture de lipides circulants augmenter (Shin et al., 2017). Enfin, une absence de gouttelette lipidique dans le BAT par délétion spécifique de DGAT1/2 ne compromet pas la fonction thermogénique en réponse

au froid (Chitraju et al., 2020). Il manque des données cliniques pour déterminer si la lipolyse du TA brun humain est réellement nécessaire. Ce type d'études serait riche d'enseignements surtout au vu de la proportion encore plus réduite du TA brun chez l'homme.

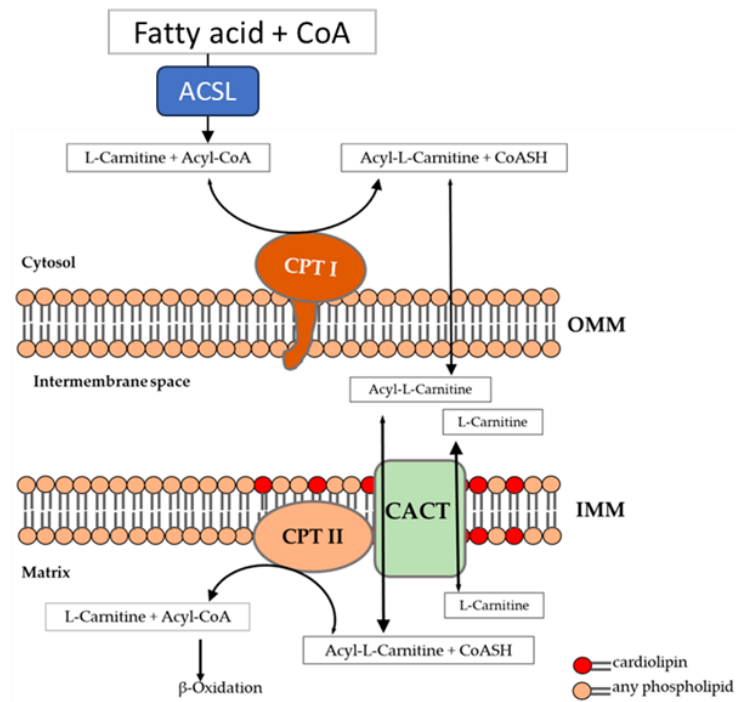
Une exposition au froid prolongée ne diminue pas d'avantage le contenu en lipides du TA brun qui a même tendance à retrouver les niveaux initiaux. Le retour à l'homéostasie lipidique suggère que les TG intracellulaires sont constamment reconstitués. Ce renouvellement, est, réalisé par la métabolisation du glucose via la glycéronéogenèse et la lipogénèse de novo au sein du TA brun essentielle à l'homéostasie lipidique du TA brun (Lundgren et al., 2023). Aussi, tout comme dans le TA blanc, les régimes obésogènes inhibent la Lipogénèse De Novo.

Par ailleurs, le transport des AG est aussi induit par le froid pour permettre au TA brun d'utiliser les produits de la lipolyse du TA blanc comme évoqué précédemment. Le PET/CT scan permet également de mettre en évidence cette augmentation grâce au traçage du <sup>18</sup>FTHA. Le TA brun va utiliser les AG circulants après hydrolyse de lipoprotéines riches en triacylglycérol (TRL) comme substrat pour la thermogénèse. En effet, la lipoprotéine lipase (LPL) est induite par le froid dans le TA brun (Khedoe et al., 2015; Carneheim et al., 1984). Dans le même temps, un des modulateurs négatifs de l'activité LPL, ANGPTL4 est inhibé par le froid. L'absence d'ANGPTL4 dans le TA brun réduit les niveaux circulants de TG et augmente la thermogénèse (Singh et al., 2018).

#### $\beta$ -oxydation des AG

Les AG issus de la lipolyse du TA blanc ou brun peuvent ensuite être métabolisés par la  $\beta$ -oxydation dans la mitochondrie. Les AG intracellulaires sont indispensables à la thermogénèse, à la fois comme principale source d'énergie et comme activateurs de la protéine UCP1. La  $\beta$ -oxydation des AG permet la synthèse d'acétyl-CoA qui pourra intégrer le cycle de Krebs afin de produire les équivalents réduits. Ces derniers seront utilisés par les protéines de la chaîne respiratoire. Des études métabolomiques ont montré que l'exposition au froid active la  $\beta$ -oxydation des acides gras chez les rongeurs et chez l'homme (Blondin et al., 2015; Cannon and Nedergaard, 2004; Ouellet et al., 2012; Hiroshima et al., 2018).

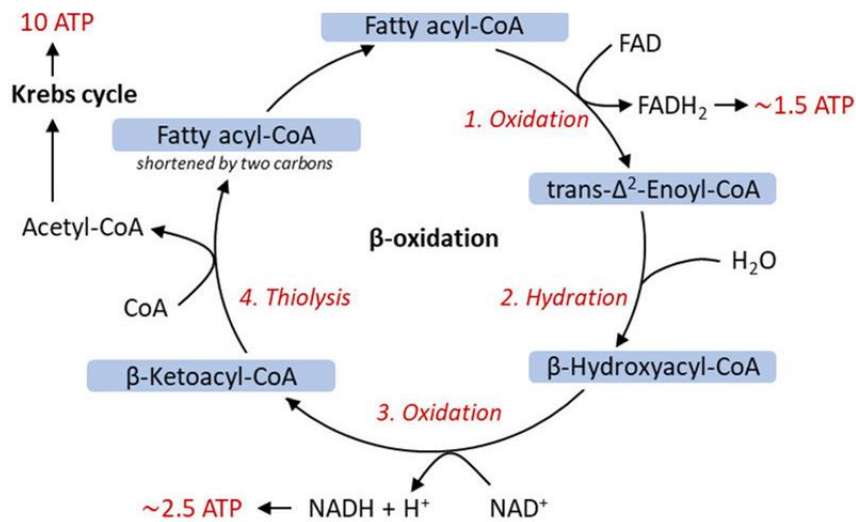
Pour être oxydés dans la mitochondrie, les AG doivent d'abord être activés en acyl-CoA par l'acyl-CoA synthétase. Ils sont ensuite transportés vers la matrice (**Figure 38**). Ce transfert nécessite l'action concertée de l'acylcarnitine, des carnitine-palmitoyl transférases 1 et 2 (CPT1/2), et de la carnitine acylcarnitine translocase, (CACT). Le groupement acyl des AG activés est transféré à une carnitine par la CPT1 (Wolfgang et al., 2006). L'acylcarnitine ainsi formé peut alors pénétrer dans l'espace intermembranaire mitochondrial puis rejoindre la matrice mitochondriale par l'action de la CACT, un antiport acylcarnitine/carnitine. Une fois dans la matrice, l'acylcarnitine sous l'action de la CPT2 reforme de l'acyl-CoA et une carnitine, qui pourra être utilisée par la CACT. Notons que les AG à chaîne moyenne (6 à 10 atomes de carbone) et à chaîne courte (2 à 4 atomes de carbone) pénètrent dans la mitochondrie par simple diffusion. L'exposition au froid augmente l'expression de Cpt1/2 dans le TA brun chez la souris (Yu et al., 2002) tandis qu'une délétion de CPT2 spécifique du TA rend les souris intolérantes au froid (Lee et al., 2015). Notons que CPT1 est inhibée de façon allostérique par le malonyl-CoA, intermédiaire de la DNL produit par l'ACC2 au niveau mitochondrial (Faye et al., 2005). Ainsi, le transport et l'utilisation des AG par la mitochondrie sont nécessaires pour la thermogenèse. De plus, les acylcarnitines dérivés du foie peuvent également agir comme source d'énergie pour la thermogenèse du TA brun, et la supplémentation en carnitine protège les souris de la sensibilité au froid induite par l'âge (Simcox et al., 2017).



**Figure 38: Passage des acides gras vers la matrice mitochondriale**

Dans la matrice mitochondriale, les AG sont oxydés à travers plusieurs tours d'un cycle enzymatique qui génère une molécule d'acétyl-CoA, un FADH<sub>2</sub>, un NADH et un acyl-CoA (avec n-2 atomes de carbone qu'au tour précédent). Les réactions se présentent comme suit (hélice de Lynnen) (**Figure 39**) :

- Déshydrogénation des acyl-CoA en présence de FAD, catalysée par une acyl-CoA déshydrogénase (AD) parmi plusieurs en fonction de la longueur de l'acyl-CoA. La SCAD assure l'oxydation des AG à chaîne courte, la MCAD, celle des AG à chaîne moyenne et la VLCAD, celle des AG à chaîne longue
- Hydratation catalysée par l'énoyl-CoA hydratase
- Déshydrogénation par une 3-hydroxy-acylCoA (HAD) déshydrogénase, LCHAD pour les chaînes longues et SCHAD pour les courtes
- Thiolyse catalysée par la  $\beta$ -cétotliolase



**Figure 39: La β-oxydation des acides gras**

## Métabolisme du glucose

Bien que les AG représentent le substrat principal du TA brun, les nouvelles techniques d'imagerie qui ont mis en évidence la présence de ce tissu actif chez l'adulte repose sur la capture d'analogues non métabolisables du glucose comme le <sup>18</sup>F-FDG. A la différence des cellules tumorales, les adipocytes ne prolifèrent pas. Ainsi, la capture intense de glucose du BAT paraît être directement liée à la thermogénèse de ce tissu si particulier. En effet, l'analyse de PET/CT scans et des expériences de microdialyses ont montré que la capture de glucose du TA brun humain passait de 10 nmol/g/ min à thermoneutralité à 50/200 nmol/g/min à la suite d'une exposition au froid. Dans ces conditions, l'import de glucose par le TA brun est même supérieur à celui du muscle squelettique lorsqu'elle est rapportée au poids de tissu (Blondin et al., 2017).

L'entrée du glucose dans les adipocytes thermogéniques est réalisée grâce aux transporteurs de glucose GLUT1 et GLUT4. Leur expression est importante dans le TA brun et elle est augmentée par l'exposition au froid chez la souris (Yu et al., 2002) et le rat (Labbé et al., 2015). Une fois dans l'adipocyte brun, le glucose peut directement être métabolisé pour produire de l'énergie par glycolyse cytosolique suivie de la phosphorylation oxydative mitochondriale. *In vitro*, l'inhibition de Glut1 ou de Glut4 réduit la glycolyse et la

consommation d'oxygène des adipocytes bruns en réponse à l'isoprotérénol (Winther et al., 2018). Le TA brun humain exprime des niveaux plus élevés de GLUT1 et GLUT4 par rapport au TA blanc d'un même individu (Orava et al., 2011). En revanche, chez l'homme, seule l'expression de GLUT4 augmente considérablement lors de la différenciation des adipocytes bruns. Par ailleurs, l'inhibition de GLUT4 réduit le transport du glucose et la thermogénèse, ce qui suggère que GLUT4 est le transporteur le plus important dans la thermogénèse chez l'homme (Lee et al., 2016). Aussi, l'inhibition pharmacologique de la lipolyse réduit le métabolisme oxydatif du TA brun mais aussi le transport du glucose de ce tissu indiquant que le métabolisme du glucose et celui des lipides sont étroitement liés (Labbé et al., 2015; Blondin et al., 2017). Enfin, l'inhibition de gènes essentiels à la glycolyse comme l'hexokinase 2 (HK2) qui phosphoryle le glucose en glucose 6-phosphate (G6P) ou la pyruvate kinase M (PKM) réduit la glycolyse mais aussi la consommation de glucose des adipocytes bruns.

Les progrès de l'analyse métabolomique ont permis de mieux caractériser le devenir des différents substrats du TA brun notamment grâce au traçage d'analogues du glucose métabolisables comme le [U-<sup>13</sup>C]glucose. Le pyruvate peut passer du cytosol à la mitochondrie via un transporteur spécifique (Mitochondrial pyruvate carrier, MPC), un hétérodimère codé par deux gènes (Mpc1 et Mpc2). Chez la souris, les niveaux de Mpc1/2 sont bien plus élevés dans le TA brun que dans le TA blanc (Burrell et al., 2020). Ils sont également augmentés par le froid (Wang et al., 2020; Panic et al., 2020). En conséquence, la capture du pyruvate est induite par la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique dans les adipocytes bruns. De plus, une délétion spécifique de Mpc1 dans les adipocytes bruns provoque une hypothermie chez la souris (Panic et al., 2020). Une fois dans la matrice mitochondriale, le pyruvate est métabolisé par la pyruvate carboxylase (PC) et la pyruvate déshydrogénase (PDH) pour former de l'oxaloacétate et de l'acétyl-CoA, qui entre ensuite dans le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA) ou cycle de Krebs pour être complètement oxydé.

La phosphorylation de la PDH par la PDH kinase (PDK) est inhibitrice. Or, PDK4 est aussi induits dans le TA brun par une exposition au froid une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Hao et al., 2015; ) ou lors d'une conversion d'adipocytes humains vers un phénotype thermogénique (Barquissimeau et al., 2016).



Le produit de la réaction entre l'oxaloacétate et l'acétyl-CoA, catalysée par la citrate synthase (CS), peut aussi être exporté hors de la mitochondrie. Dans ce cas, le glucose devient une source importante de carbone pour la production de glycérol et d'acétyl-CoA, lors de la DNL, essentielle à l'homéostasie du TA brun. Le citrate peut rejoindre le cytosol grâce à des transporteurs spécifiques, (citrate transporter protein, CTP codé par le gène *Slc25a1*). Hors de la mitochondrie, le citrate est clivé en oxaloacétate et acétyl-CoA par l'ATP citrate lyase (ACLY). L'acétyl-CoA cytosolique peut alors être utilisé pour la biosynthèse des AG par carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC). L'expression de CTP et d'ACLY est régulée par la température. Chez l'homme et la souris, l'expression d'Acly est augmentée par l'exposition au froid (Chondronikola et al., 2016). Aussi, les niveaux de Ctp sont plus bas dans le TA brun de souris hébergées à thermoneutralité (Yu et al., 2002).

Dans le TA aussi bien blanc que brun, la DNL est diminuée par un régime riche en graisse (Tang et al., 2016; Sanchez-Gurmaches et al., 2018). La stimulation  $\beta$ -adrénergique chronique augmente la DNL dans le TA, surtout le brun. Notons cependant que la DNL n'est pas encore induite 24 heures après une unique injection d'agoniste  $\beta$ 3-adrénergique (Mottillo et al., 2014). En revanche, l'adaptation au froid n'induit la DNL uniquement dans le TA brun (Lundgren et al., 2023). Des expériences de traçage radioactif ( $[^{14}\text{C}]$ glucose) ou non ( $[U-^{13}\text{C}]$ glucose) ont confirmés que le glucose pouvait être le précurseur de la synthèse d'AG comme le palmitate dans le TA brun suite à une exposition au froid (Saggerson et al., 1988; Wang et al., 2020).

Cependant, la délétion de FASN dans le TA induit un brunissement du TA blanc (Lodhi et al., 2012). De plus, l'étude de divers modèles KO pour les enzymes de la DNL ont montré que l'ACC1 et FASN étaient de puissants inhibiteurs de la thermogénèse du TA blanc en favorisant la synthèse d'AG comme le palmitate plutôt qu'en modulant les intermédiaires de la DNL comme l'acétyl-CoA ou le malonyl-CoA (Guilherme et al. 2017, 2018).

Le glucose capté par l'adipocyte brun peut aussi être utilisé pour la synthèse de triglycérides via la formation de glycerol 3-phosphate (G3P). Ce métabolite du glucose est accumulé *in vitro* dans les adipocytes T37i traités au CL316,243 et *in vivo* dans le TA brun de souris acclimatées au froid (Held et al., 2018; Wang et al., 2020). Le traçage de  $[U-^{13}\text{C}]$ -glucose indique que le glucose est plus présent dans le squelette de glycérol que dans les acétyl-CoA

incorporés pour former les TG. Ainsi, le glucose intègre les triglycérides principalement via le G3P et non via la DNL. L'augmentation de la PDK4 semble donc cohérente avec les données de métabolomique. La PDK4 permet ainsi de moduler le devenir du glucose dans l'adipocyte brun, entre l'oxydation et la synthèse de G3P.

Le glucose peut également être incorporé dans des granules de glycogènes au sein des adipocytes bruns. Le glycogène est nécessaire à la formation des gouttelettes lipidiques des adipocytes bruns (Mayeuf-Louchart et al., 2019). La synthèse de glycogène est aussi nécessaire pour optimiser la thermogenèse adaptative du TA beige (Zhuo et al., 2024). Par ailleurs, chez la souris déficiente en DGAT1/2 dans le TA brun, et donc incapable de synthétiser les TG de façon optimale, les niveaux de glycogène et l'activité de la glycogène synthase (GYS) sont augmentés (Chitraju et al., 2020).

L'expressions des enzymes impliquées dans la synthèse du glycogène (Uridine diphosphate-glucose pyrophosphorylase, UGP et GYS) et sa dégradation (glycogène phosphorylase, PYGL) est augmentée chez les rongeurs lors d'une exposition au froid (Hao et al., 2015. Labbé et al., 2015). Ce turnover intense indique que le glycogène participe à l'adaptation au froid et contribue à la plasticité métabolique du TA brun.

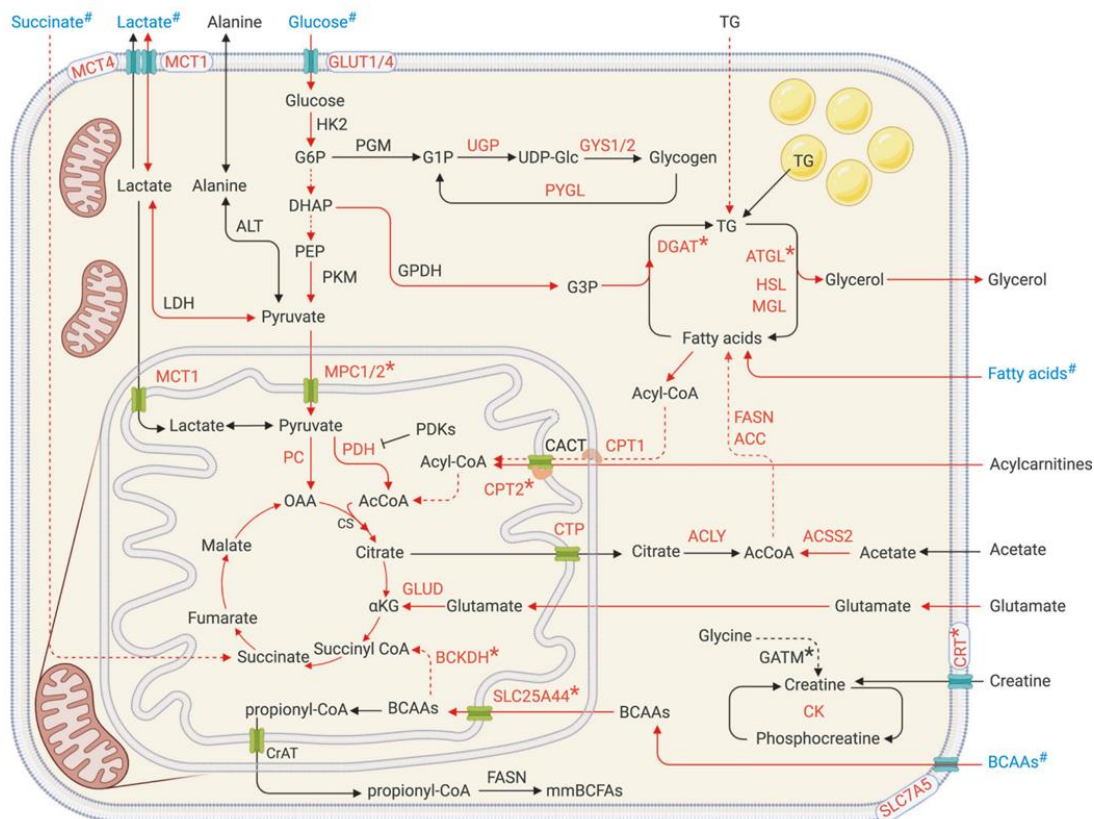
### Utilisation d'autres substrats

D'autres nutriments autres que le glucose et les lipides peuvent être métabolisés par le TA brun au profit de la thermogenèse (**Figure 40**). Ainsi, le TA brun est parfois qualifié de siphon métabolique. Il s'agit souvent de métabolites qui rejoignent le cycle de Krebs.

Le succinate fait partie de ces intermédiaires. Le métabolome du TA brun a montré que le succinate était un métabolite accumulé sélectivement dans ce tissu lors d'une exposition au froid. In vitro, les adipocytes bruns peuvent capter et oxyder le succinate extracellulaire. Enfin, l'administration de succinate peut directement stimuler la thermogenèse dans le TA brun chez la souris, via la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) médiées par la succinate déshydrogénase, le complexe II de la chaîne respiratoire (Mills et al., 2018). Ces ROS physiologiques initient également la thermogenèse dans le TA beige (Chouchani et al., 2016).

Le glutamate peut aussi rejoindre le cycle de Krebs via sa conversion en  $\alpha$ -kétoglutarate par la glutamate déshydrogénase exprimée dans le TA brun, y compris chez l'homme. Son import est augmenté par le froid dans ce dernier mais pas dans le TA blanc (Weir et al., 2018). Les acides aminés à chaîne ramifiée (BCAA) participent également à la thermogénèse non frissonnante du TA brun par incorporation au cycle de Krebs ou par augmentation de la respiration mitochondriale (Yoneshir et al., 2019). Chez la souris, l'inhibition spécifique de la SLC25A44, un transporteur de valine et de leucine, perturbe la thermogénèse. Chez l'homme, l'exposition au froid améliore la clairance systémique des BCAA, la valine et la leucine, uniquement chez les sujets présentant une activité thermogénique. De plus, l'expression du transporteur mitochondrial SLC25A44 est augmentée par l'exposition au froid. Enfin, les patients en situation d'obésité présentent des niveaux élevés de BCAA circulants (Newgard et al., 2009).

Comme le glucose, le lactate peut fournir du pyruvate et donc alimenter le cycle de Krebs (Rabinowitz et al., 2020). C'est donc aussi un substrat énergétique utilisable par le TA brun (Saggerson et al., 1988). Le lactate contrôle aussi l'expression d'Ucp1 en modifiant le statut redox (Carrière et al., 2014). L'import de lactate par l'adipocyte brun ainsi que son import à la mitochondrie se fait grâce au Monocarboxylic transporter 1 (MCT1). Son expression est importante dans le TA brun et augmentée dans le TA blanc avec l'exposition au froid (Lagarde et al., 2020). Aussi, l'inhibition pharmacologique de MCT1 a confirmé le rôle du lactate dans la thermogénèse du BAT (Jeong et al., 2018).



**Figure 40: Flexibilité métabolique de l'adipocyte brun**

L'adipocyte brun utilise plusieurs métabolites, dont le glucose, les lipides et les acides aminés, pour favoriser la thermogénèse. En rouge, les métabolites dont l'expression est augmentée par la stimulation du TA brun. Les flèches rouges correspondent aux augmentations des flux métaboliques décrits avec la stimulation du TA brun des flux métaboliques. Les métabolites en bleu indiquent les métabolites extra-cellulaires utilisés comme traceurs métaboliques dans les adipocytes bruns. \* : enzymes et protéines étudiées avec des modèles de délétion génétique murins. D'après Wang et al., 2021).

## Thermogénèse UCP1 indépendante

UCP1 a été découverte en 1976. Certaines données expérimentales obtenues chez la souris délétées pour UCP1 ont cependant surpris. En effet la souris *Ucp1*<sup>-/-</sup> est certes sensible à une exposition aigue au froid mais son adiposité n'est pas supérieure (Enerback et al., 1997). De plus, ces mêmes souris maintiennent une dépense énergétique normale au repos et résistent à l'obésité induite par l'alimentation à températures d'hébergement conventionnelles (Liu et al., 2003). Enfin, elles peuvent même s'adapter au froid en cas d'acclimatation. Ainsi, il existe des mécanismes permettant d'augmenter la thermogénèse indépendamment d'UCP1 (**Figure 41**). Ils reposent sur la réalisation de cycles métaboliques dits futiles.

Un cycle futile consiste en un ensemble de réactions biochimiques qui se déroulent simultanément dans des directions opposées. Le produit de la première réaction étant le substrat de la seconde réaction, et le produit de la seconde réaction le substrat de la première. La réalisation d'un tel cycle conduit à une diminution nette de l'ATP, permet également de consommer des excès de nutriments et de dissiper de l'énergie sous forme de chaleur (Newsholme et al., 1978).

#### Calcium

Le cycle du calcium est l'un des mécanismes impliqués dans la thermogenèse adaptative indépendante d'UCP1. D'abord étudié dans le muscle squelettique (de Meis et al., 2001), ce cycle est aussi réalisé dans le TA beige (Ikeda et al., 2017; Mottillo et al., 2018). La stimulation  $\alpha 1/\beta 3$ -adrénergique induit ce cycle futile. En effet, la sarco/réticulum endoplasmique  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (SERCA2b) et le récepteur à la ryanodine (RYR) sont activés. La SERCA2b hydrolyse l'ATP faisant rentrer le calcium dans le réticulum tandis que l'activation du RYR permet le retour du calcium dans le cytoplasme, entraînant ainsi une consommation d'ATP et la production de chaleur. Notons que cette thermogenèse n'est pas réalisée dans les adipocytes bruns, mais uniquement dans les beiges, probablement lié à la faible expression de l'ATP synthase dans le TA brun.

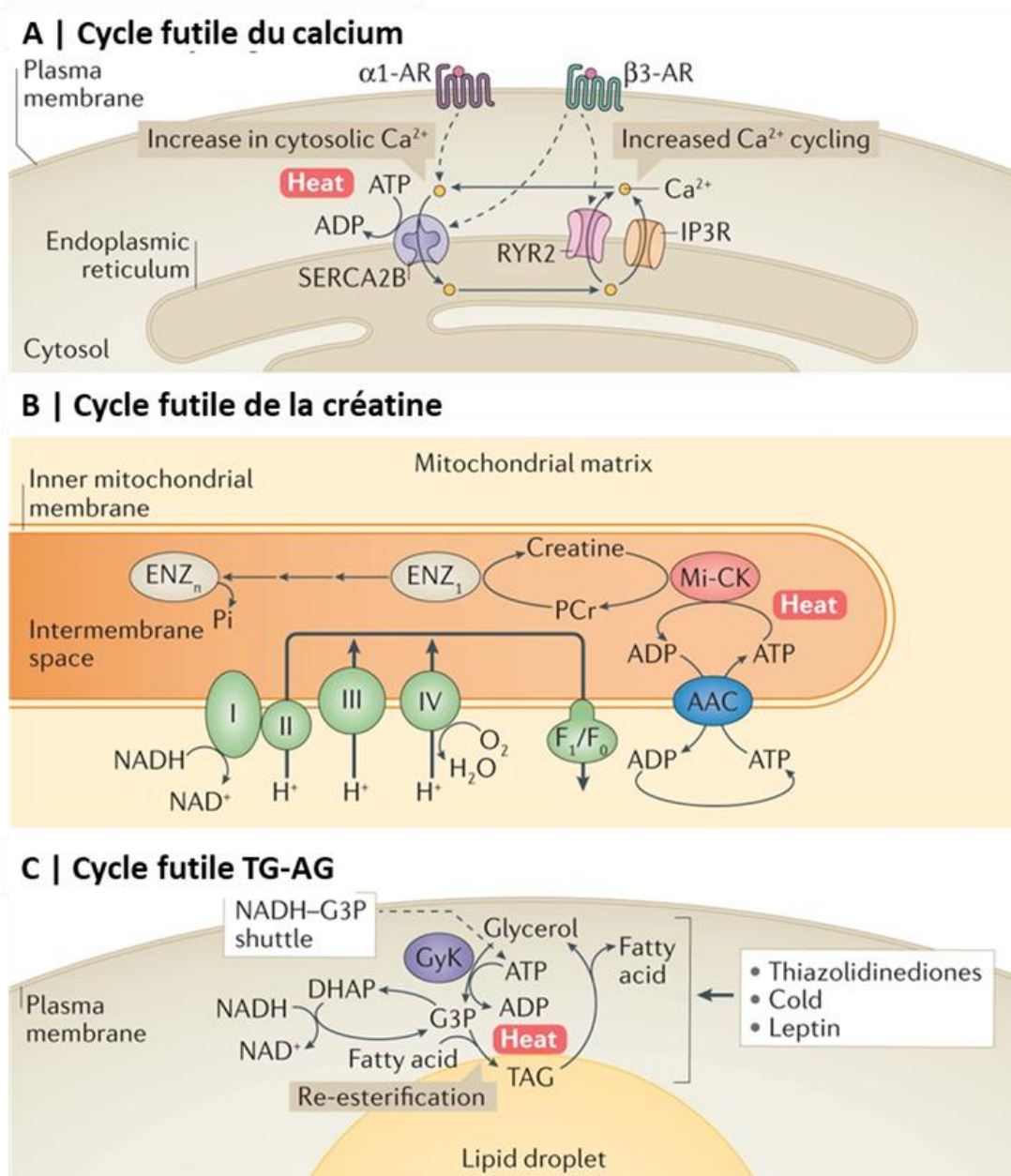
#### Créatine

La créatine est stockée dans les muscles sous forme de phosphocréatine. Lorsque les muscles ont besoin d'énergie, la phosphocréatine est utilisée pour la synthèse d'ATP, notamment lors d'efforts anaérobies, courts et intenses. Le cycle de la créatine permet également la production de chaleur indépendamment d'UCP1 (Kazak et al., 2015). Il a d'abord été étudié dans des mitochondries isolées de TA beige de souris exposées au froid dans des conditions limitantes en ADP, puis confirmé dans les adipocytes bruns de souris et humains (Rahbani et al., 2021). Dans des conditions limitantes en ADP, la phosphorylation de la créatine par la créatine kinase mitochondriale (Mi-CK) se produit simultanément avec l'hydrolyse de la phosphocréatine (PCr), créant ainsi un cycle de substrat futile induit par la créatine. La délétion du transporteur de créatine SLC6A8 réduit la dépense énergétique chez la souris (Kazak et al., 2019). En l'absence d'UCP1, les gènes impliqués dans le métabolisme de la créatine, y compris la créatine kinase B (CKB), sont induits par l'AMPc. De plus, l'inactivation génétique spécifique dans le TA brun de l'enzyme limitante de la synthèse de la créatine, la glycine amidinotransferase (GATM) altère la dépense énergétique et induit une

obésité par l'alimentation et une intolérance au froid. Enfin, la délétion simultanée d'UCP1 et de Mi-CK aggrave les phénotypes observés par la simple délétion d'UCP1 ou de Mi-CK (Rahbani et al., 2024).

#### Réestérification des AG

Au sein du TA thermogénique, le cycle futile des TG fait référence à un processus biochimique dans lequel les TG sont continuellement synthétisés et dégradés sans accumulation nette. Ce cycle est associé à une dépense énergétique accrue. La dégradation des TG en AG libres consomme de l'énergie, tandis que la resynthèse des TG à partir d'AG et de glycérol en consomme également. La lipolyse et la ré-estérification sont mutuellement régulées. En effet, des souris délétées pour la HSL présentent une diminution de la lipolyse mais aussi de la réestérification des acides gras (Zimmermann et al., 2003). La stimulation  $\beta$ -adrénergique, l'exposition au froid ou les agonistes de PPAR $\gamma$  comme la rosiglitazone augmentent l'activité de ce cycle, permettant l'optimisation des quantités d'AG nécessaires à la thermogénèse sans frisson (Brooks et al., 1983; Barquissau et al., 2016; Lasar et al., 2018). La rosiglitazone augmente notamment les niveaux d'aquaporine 7 et de la glycérol kinase, respectivement impliquées dans la recapture du glycérol et la phosphorylation de ce dernier en glycérol-3-phosphate.



**Figure 41: La thermogénèse indépendante d'UCP1**

Plusieurs cycles futiles permettent la production de chaleur indépendamment d'UCP1. Le cycle futile du calcium reposant sur le transport de ce dernier entre le cytosol et le réticulum endoplasmique (A), celui de la créatine reposant sur sa phosphorylation et hydrolyse successives (B), et celui des triglycérides basés sur le recyclage de ces derniers, par hydrolyse et réestérifications successives (C). D'après Cohen et Kajimura, 2021).

## Le tissu adipeux brun est aussi un organe sécrétoire

Le TA thermogénique est caractérisé par sa diversité de substrats utilisés pour la production de chaleur mais aussi ses sécrétions spécifiques, aussi appelés BATokines. Contrairement au TA blanc, le TA brun sécrète peu de leptine ou de TNF- $\alpha$  (Ortega et al., 2011), et moins d'adiponectine. De plus, plusieurs études de transplantations de TA brun confirment les effets bénéfiques de cet organe au-delà de la thermogenèse (Villarroya et Giral, 2015).

La transplantation de TA brun chez la souris diminue l'adiposité, améliore la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline, même en régime riche en graisse, ou chez la souris Ob/Ob (Standford et al., 2012; Liu et al., 2013; Liu et al., 2015). Ces effets bénéfiques sont associés à une augmentation de l'import du glucose dans le TA blanc, le TA brun et le cœur. De plus, ils sont en partie médiée par l'augmentation des niveaux de FGF21 et d'IL6 provenant du TA brun.

### FGF21

Bien que le foie soit le principal contributeur de la synthèse de FGF21 (Markan et al., 2014; Ameka et al., 2019), le TA brun peut aussi le sécréter grâce à la stimulation noradrénergique (Hondares et al., 2011; Fisher et al., 2012; Abu-Odeh et al., 2021). Le TA et le foie sont connectés pour réguler les niveaux de FGF21. En effet, la lipolyse médiée par ATGL contrôle l'expression génique dans le foie en réponse à une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Fougerat et al., 2022). De plus, chez le rongeur nouveau-né, les AG provenant du lait induisent la libération de FGF21 par le foie et augmente l'expression de marqueurs thermogéniques dans le TA brun (Hondares et al., 2010). Chez l'homme, les taux sériques de FGF21 sont associés de façon positive à l'activité du TA brun (Hanssen et al., 2015). Le FGF21, y compris provenant du TA brun, possède également des effets cardioprotecteur (Thoonen et al., 2015).

### Interleukine 6

L'augmentation des niveaux de FGF21 et de l'interleukine 6 dans le TA brun n'est, en revanche, pas retrouvée dans le cas de transplantations de TA brun provenant de souris délétées pour le gène de l'IL-6 (Standford et al., 2012). *In vitro*, son expression et sa sécrétion par les adipocytes bruns sont induites par la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Burysek et al., 1997). De plus, l'IL-6 est plus sécrétée par les adipocytes beiges que par les adipocytes blancs. L'inhibition du récepteur de l'IL-6 diminue l'expression de marqueurs



thermogéniques (Kristóf et al., 2019). *In vivo*, le stress provoque aussi une augmentation de la sécrétion d'IL-6 par le TA brun, non pas seulement pour la thermogénèse mais pour induire la néoglucogénèse hépatique (Qing et al., 2020). L'IL-6 est également une myokine dont l'expression est induite par l'exercice, améliorant la sensibilité à l'insuline dans ce tissu (Ikeda et al., 2016).

#### Bone Morphogenetic Proteins

Le TA brun produit également plusieurs protéines de la famille des bone morphogenetic protein (BMP). BMP4 est induit dans les progéniteurs des adipocytes blancs et favorise l'adipogénèse blanche. BMP4 peut aussi induire l'engagement et la différenciation des cellules précurseurs beiges (Elsen et al., 2014). En effet, la surexpression de BMP4 dans le TA blanc induit le brunissement de celui-ci, tandis que la souris délétée pour BMP4 dans le TA possède des adipocytes hypertrophiés et développe une résistance à l'insuline (Qian et al., 2013). BMP7 régule l'adipogénèse brune en induisant notamment l'expression de PRDM16 et PGC1 $\alpha$  (Tseng et al., 2008). Les niveaux de BMP8b sont plus élevés dans le TA brun que le TA blanc et son expression est augmentée par la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique (Whittle et al., 2012). BMP8b est, en revanche, sécrétée par les adipocytes bruns matures. La surexpression de BMP8b induit la thermogénèse via l'augmentation de la vascularisation et de l'innervation du TA (Pellegrinelli et al., 2018).

#### NRG4

La surexpression de BMP8b induit aussi la synthèse d'une autre batokine, la néréguline 4 (NRG4) permettant la croissance des neurites. Lorsqu'elle est sécrétée, NRG4 agit également sur le foie en inhibant la lipogénèse hépatique qui est augmentée par l'obésité ou dans les MAFLD (Wang et al., 2014 ; Liu et al., 2023). NRG4 stimule aussi la sécrétion d'insuline au niveau pancréatique (South et al., 2013).

## Sécrétions lipidiques

Les lipides permettent d'activer ou de stabiliser la protéine UCP1, et peuvent aussi être utilisés comme substrats énergétiques. Par ailleurs, des analyses lipidomiques ont également révélées que de nombreux lipides bioactifs étaient sécrétés par le TA brun, y compris chez l'homme (Leiria et Tseng, 2020; Kultere et al., 2020; Walker et al., 2024). Les oxylipines correspondent aux dérivés des acides gras polyinsaturés (AGPI) oméga-3 ou oméga-6, métabolisés par les cyclooxygénases (COX), les lipoxygénases (LOX) ou la cytochrome P450 époxygénase (CYP P450). Ces lipides bioactifs peuvent réguler l'adipogenèse (Barquissau et al., 2017) ou l'inflammation (Serhan et al., 2014). Ces médiateurs lipidiques sont aussi impliqués dans la thermogenèse sans frisson, notamment via la formation d'adipocytes beiges. J'ai eu l'opportunité d'étudier le potentiel thermogénique de plusieurs de ces lipides dans les adipocytes hMADS. Ces résultats sont présentés en **Annexe 3**.

### Les prostaglandines

Les prostaglandines (PG) font aussi partie des lipides sécrétés par le TA brun. Ce sont des dérivés de l'acide arachidonique (ARA) produits grâce aux COX1, COX2 et PG synthases. Les PG exercent leurs effets distinctifs en se liant à leurs récepteurs couplés aux protéines G ; D-prostanoid receptors (DP)1–2 pour le PGD2, E-prostanoid receptors (EP)1–4 pour le PGE2, prostacyclin (IP) pour PGI2, TP pour le thromboxane A2 (TxA2), and FP pour le PGF2 $\alpha$  (Ricciotti et FitzGerald, 2011; Barquissau et al., 2017). La PGE2 induit la différenciation beige des pré-adipocytes du TA blanc (García-Alonso et al., 2013). aussi, l'inhibition pharmacologique de COX2 ou du récepteur EP4 réduit le recrutement d'adipocytes beiges (Madsen et al., 2010; Vegiopoulos et al., 2010). De même, un analogue stable de la PGI2, la carbaprostacycline, induit la conversion d'adipocytes blancs vers un phénotype thermogénique (Ghandour et al., 2016) et la formation de novo d'adipocytes thermogéniques (Bayindir et al., 2015). De plus, la lipolyse peut également induire la production de métabolites comme la PGD2 pour stimuler la prolifération des préadipocytes beiges (Abe et al., 2023). En revanche, d'autres dérivés des COX inhibent la fonction du TA thermogénique. La PGF2 $\alpha$  empêche la différenciation adipocytaire (Liu et al., 2007) tandis que le thromboxane B2 (TxB2), le métabolite issu de la dégradation du TxA2, et la PGF2 $\alpha$  réduisent l'expression d'UCP1 (Ghandour et al., 2018; Colson et al., 2023). Cela souligne la fine régulation de la synthèse de ces métabolites pour maintenir l'homéostasie du TA.

### 12-13 diHOME

En 2017, le 12,13-dihydroxy-9Z-octadecenoic acid (12,13-diHOME) a été identifié comme une BATokine induite par le froid augmentant l'activité thermogénique et le transport d'AG vers le TA brun (Lynes et al., 2017). Le 12,13-diHOME est un dérivé de l'acide linoléique, métabolisé par le cytochrome P450, puis par des époxydes hydrolases solubles (sEH). Chez l'homme, les niveaux circulants de 12,13-diHOME sont augmentés par l'exposition au froid, et négativement corrélés à l'IMC, l'HOMA-IR ou les niveaux de TG. Notons aussi que l'exercice physique induit la sécrétion de 12,13-diHOME pour augmenter le transport d'AG vers les muscles squelettiques ainsi que la fonction mitochondriale (Stanford et al., 2018; Gurup et al., 2023). La transplantation de TA brun indique aussi que le 12,13-diHOME provenant de ce tissu améliore la fonction cardiaque (Pinckard et al., 2021).

### 12-HEPE

Le 12-hydroxyeicosapentaenoic acid (12-HEPE) est un autre dérivé d'AGPI impliqué dans le métabolisme du TA brun. Le 12-HEPE, produit par l'adipocyte brun agit de façon autocrine et paracrine. Il est issu de la métabolisation de l'acide eicosapentaénoïque (EPA) par la 12 lipoxygénase (12LOX). L'expression de cette enzyme est induite par le froid, ou la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique. Il en est de même pour ses produits. La délétion du gène codant cette enzyme dans le TA brun induit une intolérance au froid et diminue l'utilisation du glucose. L'injection de 12-HEPE augmente l'import de glucose ainsi que la lipogenèse de novo vers le TA brun via l'activation de GLUT, et d'AKT (Leiria et al., 2019).

### Résolvines

Les LOX sont aussi impliqués dans la synthèse de médiateurs lipidiques anti-inflammatoires, les specialized proresolving lipid mediators (SPMs). Cette famille est aussi composée de dérivés d'EPA et de DHA aux propriétés anti-inflammatoires dans de nombreux organes. Elle regroupe les résolvines, les protectines et les marésines qui participent activement à la résolution de l'inflammation dans plusieurs tissus dont le TA (Martínez-Fernández et al., 2017; Félix-Sorianoal., 2021). On peut notamment citer la marésine 1 (MaR1) qui favorise l'activité thermogénique du TA brun et le brunissement du TA blanc par des mécanismes dépendants de l'IL-6 et de LGR6 (Laiglesia et al., 2023).

La marésine 2 (MaR2), un autre lipide de la famille des SPMs, agit sur le foie (Sugimoto et al., 2022). La suppression du TA brun par chirurgie a confirmé que la MaR2 était sécrétée par ce tissu. Les enzymes responsables de sa synthèse sont également induites par le froid uniquement dans le TA brun et non dans le foie. La MaR2 diminue l'inflammation du foie induite par l'obésité, notamment en ciblant les macrophages hépatiques.

## E) Plasticité de l'organe adipeux et mécanosensibilité

L'une des principales caractéristiques du TA est sa grande plasticité. Sa plasticité est possible grâce à la diversité de son métabolisme glucido-lipidique, et même la variété de substrats possibles pour le TA thermogénique. Elle est même visible au niveau morphologique et peut aussi bien être physiologique, en fonction des besoins énergétiques des autres organes par exemple, ou bien pathologiques comme en témoignent l'important remodelage du TA qui se met en place avec l'obésité. Le TA s'étend par l'augmentation du nombre d'adipocytes (hyperplasie) et par l'augmentation de la taille de ces adipocytes (hypertrophie). De même, l'exposition au froid ou la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique remodèle profondément le TA. Il voit son expression génique drastiquement modifiée tout comme sa morphologie, associé à une diminution de la taille des adipocytes due à l'augmentation de la lipolyse. Se pose ainsi la question de la mécanosensibilité de cet organe. Comment le TA perçoit les variations de contraintes que subissent ses cellules, et quels sont les signalisations activées par ses mécanosenseurs ?

### Matrice extra-cellulaire et rigidité

L'adipocyte est équipé pour détecter les variations de pressions qu'il subit, celles issues des autres adipocytes (population principale en proportion volumique), de sa propre hypertrophie ou encore celles issues du réseau vasculaire. Le remodelage pathologique du TA durant l'obésité est aussi accompagné d'une synthèse excessive de protéines de la

matrice extra-cellulaire (MEC) comme les collagènes ainsi qu'une augmentation de l'activité de la lysyl oxydase (LOX). En conséquence, la MEC se rigidifie ce qui participe encore à la dysfonction adipocytaire (Pastel et al., 2017; Huang et al., 2021). La délétion spécifique du collagène de type 6 alpha 1 (Col6a1) chez la souris ob/ob induit une hypertrophie des adipocytes mais une réduction de la prise de poids. Par ailleurs, ces souris présentent un meilleur profil métabolique et moins d'inflammation (Khan et al., 2008). Au contraire, la surexpression de l'adiponectine réduit les niveaux de nombreux collagènes.

La rigidité variable de la matrice extra cellulaire peut ainsi activer différemment l'adipocyte, modulant ainsi sa capacité d'incorporation de lipides par exemple. De même, la différenciation adipocytaire est aussi dépendante des propriétés de la matrice. In vitro, la culture 2D sur des supports de rigidités variables ou même au sein de matrices en 3D permet d'étudier l'influence de la matrice sur l'adipocyte. Cultivés au sein de matrice décellularisée de TA d'individus obèses, les adipocytes sécrètent moins d'adipokines, possèdent une fonction lipolytique réduite et expriment plus de marqueurs de l'inflammation ou du remodelage de la MEC. Ces altérations sont partiellement retrouvées lorsque les adipocytes sont soumis à une force mécanique de compression (Pellegrinelli et al. 2014). L'un des médiateurs produits lors de cette contrainte est le connective tissue growth factor (CTGF) dont l'expression pourrait être régulé par la Yes-associated protein (YAP) qui est induite en réponse à des signaux mécaniques tels que la tension du cytosquelette (Halder et al., 2012). Par ailleurs, la délétion de YAP spécifiquement dans l'adipocyte diminue la taille des adipocytes, la fibrose au sein de ce tissu et améliore la tolérance au glucose (Han et al., 2022).

Au contraire, limiter la contrainte que subit l'adipocyte semble être bénéfique. La culture en microgravité simulée, développé par la NASA, est une approche pour étudier l'adipocyte dans de telles conditions (Kossmehl et al., 2003). La microgravité améliore les fonctions de l'adipocyte mature comme la lipogenèse ou la lipolyse, augmente les niveaux d'adiponectine et diminue ceux de la leptine (Anvari et al., 2024). Elle augmente aussi le transport de glucose via GLUT4 selon un mécanisme indépendant de l'activation d'AKT. Cette augmentation est liée à une formation accrue d'actine corticale par des voies de signalisation mécanosensible impliquant notamment les protéines Ras homolog family member A (Rho-A) actin-related protein 3 (ARP2/3) (Yang et al., 2014).

## Volume adipocytaire et sensibilité à l'insuline

L'augmentation du volume de l'adipocyte et donc de la pression à la membrane peut aussi être directement détectée et intégrée par la cellule. Le cytoplasme étant beaucoup moins rigide que les gouttelettes lipidiques, la rigidité globale augmente durant l'adipogenèse. La rigidité passe de 300 à 900 Pa dans les préadipocytes 3T3-L1 à environ 2 kPa dans ces mêmes cellules différenciées en adipocytes (Shoham et al., 2014). Chez l'homme, l'augmentation de la taille des adipocytes est positivement corrélée à l'altération de la sensibilité à l'insuline et de la tolérance au glucose (Acosta et al. 2016). L'hypertrophie adipocytaire est caractérisée par une réorganisation de la dynamique de l'actine en raison d'une augmentation de l'activité de la Rho-A favorisant la polymérisation de l'actine. Notons que ces changements sont normalisés tout comme l'altération de la signalisation insulinique lorsque l'hypertrophie disparaît (Hansson et al., 2019). Aussi, SWELL1 est un canal ionique sensible au volume exprimé à la membrane des adipocytes. Son expression est augmentée durant la mise en place de l'obésité et des les adipocytes hypertrophiques chez l'homme et la souris. SWELL1 est un régulateur positif de la signalisation insulinique. Sa délétion diminue l'accumulation de lipides dans l'adipocyte mais perturbe la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose (Zhang et al., 2017 ; Gunasekar et al., 2019).

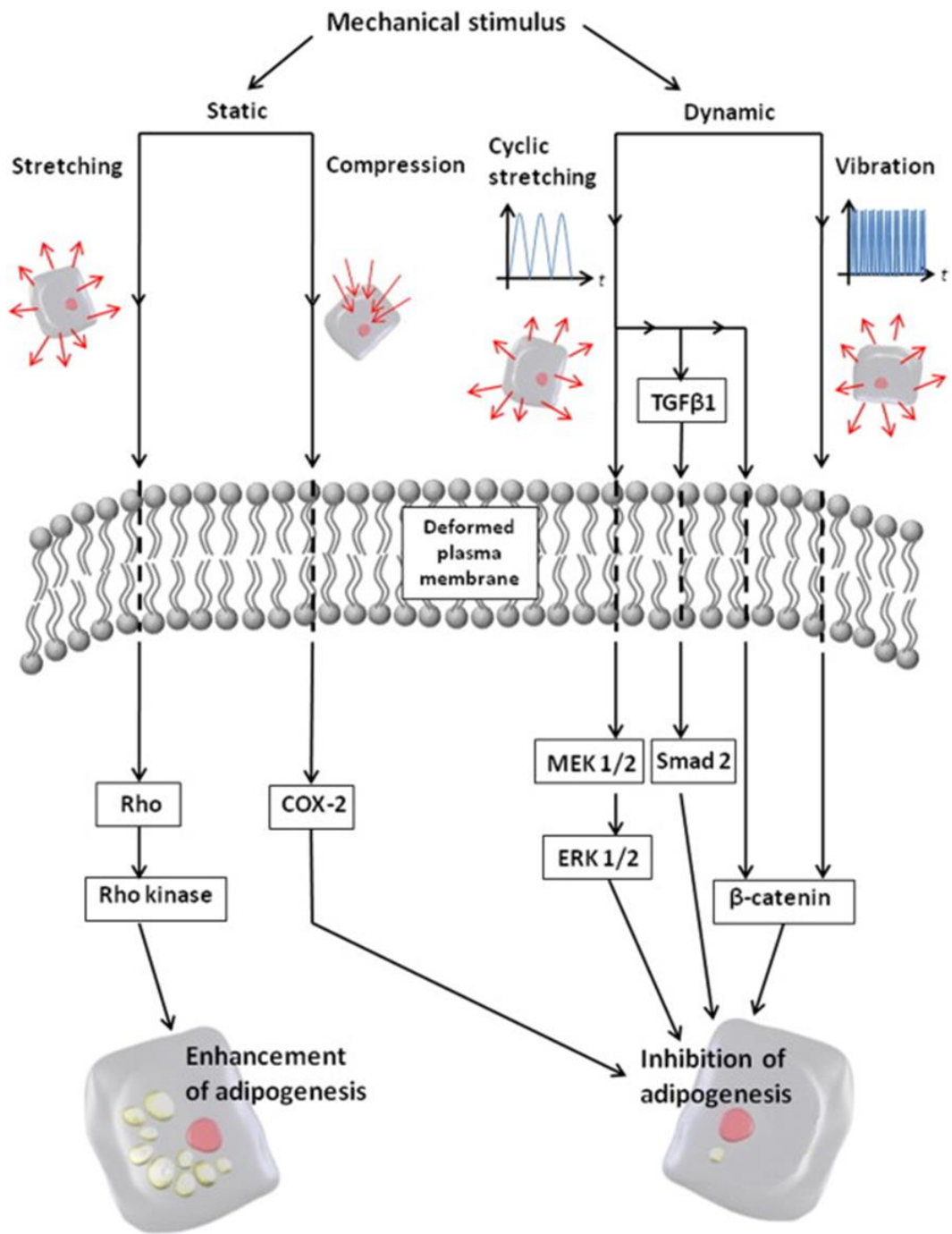
## Mécanotransduction et adipogenèse

Les contraintes mécaniques que subit le TA peuvent aussi être détectées et intégrées par les préadipocytes (**Figure 42**). La microgravité simulée augmente l'adipogenèse des cellules souches mésenchymateuses humaines en augmentant l'activité de la p38 MAPK et diminuant celle de pERK, tandis que leur potentiel ostéogénique est réduit (Zayzafoon et al., 2004). Aussi, la stimulation mécanique cyclique tend à inhiber la différenciation adipocytaire dans plusieurs modèles murins ou humains. L'expression de PPAR $\gamma$  et de C/EBP $\alpha$  est abolie lorsque des préadipocytes humains, (cellules périvasculaires du cordon ombilical, HUCPVCs) sont soumises à un étirement mécanique cyclique chronique (Turner et al., 2008). L'inhibition de la signalisation TGF $\beta$ 1/Smad restaure la différenciation adipogénique. Dans des modèles murins *in vitro* de différenciation adipocytaire, l'étirement mécanique chronique maintient l'expression de la  $\beta$ -caténine et supprime l'induction PPAR $\gamma$  et de l'adiponectine. En revanche, le potentiel de différenciation ostéoblastiques des cellules mésenchymateuses est augmenté par ce stress mécanique (Sen et al., 2008). L'étirement

mécanique cyclique réduit également la différenciation adipocytaire des cellules 3T3-L1 via la réduction de PPAR $\gamma$  et de C/EBP associé à une augmentation de la phosphorylation de ERK et l'induction de COX2 (Tanabe et al., 2004, Tanabe et al., 2008).

L'application de contraintes mécaniques statiques de compression perturbe les fonctions des adipocytes matures (Pellegrinelli et al. 2014). De telles pressions perturbent aussi la différenciation adipocytaire d'une lignée cellulaire préadipocytaire humaine (SGBS). Une fois encore, l'expression de PPAR $\gamma$  et de C/EBP $\alpha$  est réduite alors que celle de leurs modulateurs négatifs comme COX2 ou Wnt10b est augmentée (Hossain et al., 2010). Enfin, la pluripotence des cellules souches mésenchymateuses hADSCs (Adipose-derived stem cells) est modulée par la stimulation mécanique chronique. En effet, l'étirement mécanique favorise la prolifération, l'adhésion et la migration des hADSCs et inhibe l'apoptose. De telles stimulations inhibent l'adipogenèse, mais augmentent l'ostéogenèse (Fang et al., 2019). Au contraire, d'autres stimulations statiques comme l'étirement accélèrent au contraire la différenciation adipocytaire (Hara et al., 2011; Shoham et al., 2012).

Bien que le contenu en gouttelettes lipidiques soit réduit dans l'adipocyte brun par rapport au blanc, le TA blanc intact a une rigidité de 3 kPa, tandis que celle du TA brun est d'environ 4,5 kPa. De plus, la rigidité des adipocytes bruns ou d'explants de TA brun augmente rapidement après un traitement à l'isoprotérénol atteignant un maximum au bout de 30 minutes (Tharp et al., 2018). Cette contraction est dépendante de l'actomyosine et du facteur de transcription YAP/TAZ. En effet, les capacités thermogéniques et la rigidité sont diminuées en présence d'inhibiteurs pharmacologiques de la myosine. De même, la délétion de YAP/TAZ spécifiquement dans les adipocytes thermogéniques perturbe la thermogenèse.



**Figure 42: Stimulation mécanique et adipogénèse**

D'après (Shoham et Gefen, 2012).



## Mécanotransduction et canaux ioniques

### TRPV

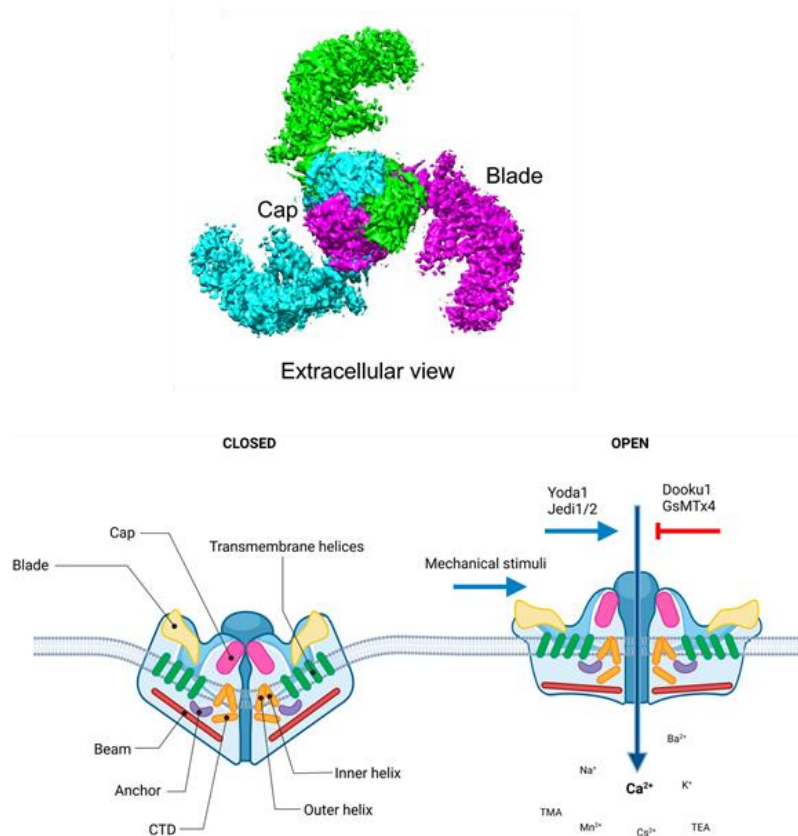
En plus du remodelage extracellulaire et des réseaux d'actines intracellulaires, les cellules du TA peuvent ressentir les contraintes mécaniques via certains canaux ioniques mécanosensibles exprimés à la membrane. Parmi ces senseurs, on retrouve notamment certaines protéines de la famille des canaux TRP (Transient Receptor Potential). Cette famille est divisée en sept sous-familles (Gees et al., 2012). La transduction de signal issue de l'activation de ces canaux repose sur l'augmentation du calcium intracellulaire. TRPV2, canal initialement décrit comme étant sensible à la chaleur (Caterina et al., 1999), peut aussi être activé par les stimulations mécaniques comme l'augmentation de volume cellulaire (Muraki et al., 2003). TRPV2 est présent dans le TA, et particulièrement exprimé par l'adipocyte brun. Son expression dans l'adipocyte augmente avec l'exposition au froid, le régime riche en graisse ou chez la souris db/db, trois situations où le volume de l'adipocyte est modifié (Sun et al., 2017). L'étude de la souris délétée pour le TRPV2 indique que la signalisation calcique médiée par le TRPV2 est impliquée dans la thermogenèse lors de l'activation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques. En effet, chez la souris, l'absence de TRPV2 provoque une intolérance au froid et une plus faible induction d'Ucp1 et de PGC1 $\alpha$ . L'obésité et la résistance à l'insuline sont aussi aggravées chez la souris TRPV2KO (Sun et al., 2016).

TRPV4 est un autre canal calcique mécanosensible exprimé par l'adipocyte (Strotmann et al., 2000). Son expression dans le TA est également augmentée chez la souris db/db (Sun et al., 2017). Cependant, TRPV4 semble être un régulateur négatif de la thermogenèse. La délétion de ce canal ou son inhibition pharmacologique facilite le brunissement du TA blanc (Ye et al., 2012). La souris TRPV4KO est résistante à l'obésité induite par l'alimentation (Kusudo et al., 2012). De plus, l'exercice physique est associé à une normalisation de l'expression de ce canal qui est augmentée par le régime riche en graisse dans le TA blanc sous-cutané (Chen et al., 2015).

D'autres canaux ioniques non mécanosensibles sont impliqués dans la formation d'adipocytes. On peut notamment citer TRPV1, activé par la chaleur ou la capsaïcine (Cao et al., 2013).

## Piezo1

Piezo1 et Piezo2 sont deux autres canaux ioniques cationiques non-sélectifs potentiellement impliqués dans la mécanotransduction dans le TA. Ils ont été caractérisés en 2010 dans les cellules Neuro2A (Coste et al., 2010). Piezo1 est une protéine transmembranaire qui fonctionne comme un canal ionique mécano-sensible, activée par des forces mécaniques telles que la pression ou l'étirement (Coste et al., 2012). Sa mécanosensibilité repose sur sa structure particulière. La protéine Piezo1 possède une structure 3D unique en forme de triskelion ou de turbine, composée de trois segments distaux flexibles qui lui permettent de détecter les forces mécaniques et de s'ouvrir en réponse à celles-ci (**Figure 43**). Lors de son ouverture médiée par une déformation locale de la membrane, Piezo1 est perméable au  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ . Les courants de Piezo1 se caractérisent par une activation rapide en réponse aux stimuli mécaniques. Piezo1 peut être activé pharmacologiquement par Yoda1 ou Jedi1/2 qui permettent en fait de retarder son inactivation. Au contraire, son activité est inhibée par la toxine peptidique GsMTx4.



**Figure 43: La structure de PIEZO1 et régulation de son activité**

PIEZO1 est ancrée à la membrane plasmique et l'incurve localement. Les stimulations mécaniques déforment la membrane permettant l'ouverture du canal. PIEZO1 est aussi activée pharmacologiquement par Yoda1 et Jedi1/2 alors qu'elle est inhibée par Dooku et le GsMTx4. Adaptée d'après (Zhao et al., 2018 ; Dienes et al., 2023).

Piezo1 est fortement exprimé dans le TA. Chez la souris nourrie avec un régime riche en graisse, sa délétion sous le contrôle du promoteur de l'adiponectine induit une insulino-résistance, associée à une inflammation du TA (Zhao et al., 2019). Ces dysfonctions pourraient être liées à un défaut d'adipogenèse (Wang et al., 2020). Le rôle de Piezo1 dans le TA brun reste inconnu à ce jour. Notons cependant que l'activation pharmacologique de ce canal inhibe la différenciation d'adipocytes bruns et d'adipocytes périvasculaires (Kenmochi et al., 2022; Rendon et al., 2022).

# Objectifs de la thèse

Le tissu adipeux peut être considéré comme un organe extrêmement plastique en raison de sa capacité à se remodeler et à s'adapter en réponse à divers stimuli physiologiques et environnementaux. Il est en effet capable de s'étendre par hypertrophie et hyperplasie en situation d'excès calorique. Au contraire, en cas de jeûne ou d'exposition au froid, la lipolyse mobilise les réserves énergétiques stockées dans les adipocytes. Cette incroyable plasticité repose sur la diversité et l'interaction entre les diverses cellules du TA, cellules de la FSV et adipocytes. Par ailleurs, les adipocytes, eux-mêmes, sont dotés d'une importante plasticité métabolique, particulièrement les adipocytes thermogéniques bruns et beiges. Depuis la redécouverte du TA thermogénique actif chez l'homme (Cypess et al., 2009; van Marken Lichtenbelt et al., 2009; Virtanen et al., 2009), augmenter le recrutement et l'activation de ces adipocytes thermogéniques est considéré comme une piste prometteuse pour la prise en charge de l'obésité et des comorbidités associées. Cela impose de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents du brunissement ou encore ceux du remodelage pathophysiologique du TA thermogénique, lors de son blanchiment durant l'obésité.

Ainsi, mon projet de thèse a pour objectifs d'affiner les connaissances sur le rôle de PPAR $\alpha$  dans le TA thermogénique chez l'homme et la souris. Il est clair que PPAR $\gamma$  régule la fonction thermogénique. Cela a été démontré grâce à divers modèles de délétion spécifique et l'utilisation d'activateurs spécifique puissants comme la rosiglitazone. L'étude de l'influence de PPAR $\alpha$  sur le TA thermogénique est plus complexe en raison de la moindre spécificité de ses agonistes et de l'importance de PPAR $\alpha$  au niveau hépatique.

Mon projet de thèse s'articule donc autour de deux axes principaux :

- Etudier *in vitro* le rôle de l'activation de PPAR $\alpha$  par le pémafibrate dans la conversion thermogénique d'adipocytes humains. Cette approche *in vitro* a pour avantage d'éliminer toute influence de l'activation de PPAR $\alpha$  hors du TA, notamment hépatique.
- Etudier chez la souris, l'influence de la délétion de PPAR $\alpha$  dans le TA brun dans des conditions peu documentées, à savoir une double stimulation, nutritionnelle avec un régime riche en graisse combiné à un traitement avec un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques.

Par ailleurs, le TA thermogénique étant un tissu extrêmement plastique, il est fondamental de comprendre comment les remodelages qu'il subit sont détectés par les adipocytes. Durant ma thèse, j'ai donc également exploré chez la souris le rôle de Piezo1 dans le TA thermogénique, sachant qu'il s'agit d'un mécanosenseur fortement exprimé dans ce tissu.

# Résultats in vitro

Article 1

## **Regulation of UCP1 expression by PPAR $\alpha$ and pemafibrate in human beige adipocytes**

Pierre-Louis Batrow<sup>1</sup>, Christian H Roux<sup>1,2</sup>, Nadine Gautier<sup>1</sup>, Luc Martin<sup>1</sup>, Brigitte Sibille<sup>1</sup>, Hervé Guillou<sup>3</sup>, Catherine Postic<sup>4</sup>, Dominique Langin<sup>5,6,7</sup>, Isabelle Mothe-Satney<sup>1</sup> and Ez-Zoubir Amri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, Adipo-Cible Research Study Group, iBV, Nice, France

<sup>2</sup> Rheumatology Department, Hospital Pasteur 2 CHU, Adipo-Cible Research Study Group, Nice, France

<sup>3</sup>Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

<sup>4</sup>Université Paris Cité, Institut Cochin, CNRS, Inserm, Paris, France.

<sup>5</sup>Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases, I2MC, Université de Toulouse, Inserm, Toulouse III University - Paul Sabatier (UPS), Toulouse, France.

<sup>6</sup>Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse, France.

<sup>7</sup>Institut Universitaire de France (IUF), Paris, France.

\*Correspondance : iBV, Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur, CNRS UMR 7277, Inserm U1091, Tour Pasteur, Faculté de Médecine, 28 avenue de Valombrose, 06107 Nice, France; e-mail : ez-zoubir.amri@univ-cotedazur.fr

## Introduction de l'étude in vitro

Il est clair que PPAR $\gamma$  est essentiel à la formation et au fonctionnement des adipocytes blancs et thermogéniques. A ce titre, il est considéré comme le mastergene du TA. La réelle implication de PPAR $\alpha$  est plus discutée. Bien que fortement exprimé dans le TA brun, PPAR $\alpha$  l'est peu au sein du TA blanc. En revanche, son expression augmente dans ce tissu avec l'exposition au froid. Chez l'homme, peu de données sont disponibles. Ainsi, pour combler ces lacunes, j'ai utilisé un modèle d'adipocytes humains, les cellules hMADS capables de conversion vers un phénotype thermogénique. L'étude de l'implication de PPAR $\alpha$  dans cette trans-différenciation a été réalisée par l'inhibition de son expression via des petits ARNs interférents (siRNA), en complément de traitements pharmacologiques pour activer spécifiquement, PPAR $\alpha$  grâce au pémafibrate, ou PPAR $\gamma$  grâce à la rosiglitazone. Le pémafibrate étant un des derniers agonistes développés pour activer spécifiquement PPAR $\alpha$ . Cette molécule est déjà utilisée en clinique dans la prise en charge d'hyperlipidémie. Son effet passe par l'activation de PPAR $\alpha$  hépatique. En revanche, aucune donnée chez l'homme n'est disponible sur ses effets directs sur l'adipocyte. Chez la souris, le pémafibrate induit le brunissement du TA blanc et permet de maintenir l'expression des marqueurs thermogéniques après l'arrêt d'une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique. Notre approche in vitro dans un modèle d'adipocyte humain permet d'étudier uniquement les effets directs sur l'adipocyte en évitant les effets de l'activation de PPAR $\alpha$  dans d'autres types cellulaires comme les hépatocytes.

## Regulation of UCP1 expression by PPAR $\alpha$ and pemafibrate in human beige adipocytes

Pierre-Louis Batrow<sup>1</sup>, Christian H Roux<sup>1,2</sup>, Nadine Gautier<sup>1</sup>, Luc Martin<sup>1</sup>, Brigitte Sibille<sup>1</sup>, Hervé Guillou<sup>3</sup>, Catherine Postic<sup>4</sup>, Dominique Langin<sup>5,6,7</sup>, Isabelle Mothe-Satney<sup>1</sup> and Ez-Zoubir Amri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, Adipo-Cible Research Study Group, iBV, Nice, France

<sup>2</sup> Rheumatology Department, Hospital Pasteur 2 CHU, Adipo-Cible Research Study Group, Nice, France

<sup>3</sup>Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

<sup>4</sup>Université Paris Cité, Institut Cochin, CNRS, Inserm, Paris, France.

<sup>5</sup>Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases, I2MC, Université de Toulouse, Inserm, Toulouse III University - Paul Sabatier (UPS), Toulouse, France.

<sup>6</sup>Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse, France.

<sup>7</sup>Institut Universitaire de France (IUF), Paris, France.

\*Correspondance : iBV, Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur, CNRS UMR 7277, Inserm U1091, Tour Pasteur, Faculté de Médecine, 28 avenue de Valombrose, 06107 Nice, France; e-mail : ez-zoubir.amri@univ-cotedazur.fr



## Highlights

- PPAR $\alpha$  inhibition enhances UCP1 expression induced by PPAR $\gamma$  activation
- PPAR $\alpha$  is a hindrance for the induction of UCP1 expression.
- Pemafibrate is a PPAR $\gamma$  agonist for adipogenesis and UCP1 induction

## **Abstract**

**Objective :** Thermogenic adipocytes are able to dissipate energy as heat from lipids and carbohydrates through enhanced uncoupled respiration, due to UCP1 activity. PPAR family of transcription factors plays an important role in adipocyte biology. The purpose of this work was to characterize the role of PPAR $\alpha$  and pemafibrate in the control of thermogenic adipocyte formation and function.

**Methods :** We used human multipotent adipose-derived stem cells and primary cultures of stroma-vascular fraction cells, transfected with siRNA against PPAR $\alpha$ , differentiated into white or beige adipocytes, in the presence of rosiglitazone or pemafibrate. The expression of key marker genes of adipogenesis and thermogenesis was determined using RT-qPCR and Western blotting. An RNAseq analysis was also performed.

**Results:** We show that inhibition of PPAR $\alpha$  mRNA increases UCP1 mRNA and protein expression in thermogenic adipocytes. Knock-down of PPAR $\alpha$  also increases stimulated glycerol release. Pemafibrate, described as a selective PPAR $\alpha$  modulator, induces adipogenesis and the expression of UCP1 in the absence of PPAR $\alpha$  expression. These effects are inhibited by a specific PPAR $\gamma$  antagonist highly suggesting that the pemafibrate effects in adipogenesis and beiging were mediated by PPAR $\gamma$ .

**Conclusions :** Conversion of white into thermogenic adipocytes is mainly due to the activation of PPAR $\gamma$ . Moreover, we show that PPAR $\alpha$  seems to act as a brake for PPAR $\gamma$ -dependent beiging. Our data question the role of PPAR $\alpha$  in human adipocyte browning and the specificity of pemafibrate in adipocytes.

**Key words:** beige adipocyte; white adipocyte; PPAR $\alpha$ ; PPAR $\gamma$ ; pemafibrate.

## 1. Introduction

The prevalence of overweight and obesity continues to grow [1]. Obesity results from energy imbalance and affects the adipose organ. White adipose tissue (WAT) is specialized in energy storage/release in the form of lipids depending on metabolic needs whereas brown adipose tissue (BAT) burns fat to produce heat [2-4]. This thermogenic function of BAT mainly relies on the activity of uncoupling protein 1 (UCP1), a mitochondrial protein that uncouples the electron transport chain activity from ATP synthesis [4]. UCP1-independent thermogenesis has been reported, it has been shown that UCP1 and creatine kinase B participate in thermogenesis [5-7]. UCP1 is present in classical brown adipocytes possessing multilocular lipid droplets and high mitochondrial density. However, adipocytes expressing UCP1 can be found within WAT after  $\beta$ -adrenergic stimulation or cold exposure [8], and these thermogenic cells are named beige or brite (brown in white) adipocytes. In the late 2000s, advances in imaging invalidated the admitted idea that, in humans, BAT disappeared with aging by putting in evidence the presence of thermogenic adipose tissue in healthy adult humans [9-11]. These thermogenic adipocytes originate either from de novo differentiation of precursor cells or conversion of mature white adipocytes [12; 13].

The peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) family is involved in fatty acid oxidation and adipogenesis [14-16]. PPARs regulate gene transcription through binding to lipophilic ligands/activators, function as a heterodimeric complex with the retinoid X receptor (RXR), regulate various cellular activities, and are involved in several pathologies such as obesity, diabetes, neurodegenerative and cardiovascular diseases, and cancer [38; 39]. Three isoforms of PPARs ( $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ ) have been described, with different functions and tissue expressions: PPAR $\alpha$  is the most expressed isoform in the liver among the three isotypes, while high levels of PPAR $\gamma$  are found in adipose depots. PPAR $\alpha$  is also highly expressed in BAT. Interestingly, PPAR $\alpha$  expression is low in WAT, but it increases during browning of white adipocytes upon cold exposure or treatment with CL316,243, a  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist [40], suggesting a role in WAT beiging. However, PPAR $\alpha$  seems dispensable for adipogenesis and cold-induced UCP1 expression as deletion of PPAR $\alpha$  in mice does not lead to any alteration in the WAT [40]. The role of PPAR $\alpha$  in the regulation of thermogenic capacity remains unclear, especially in humans, with very few data available in human models or in clinics.

PPARs endogenous ligands are lipids, but they remain to be identified, even though several studies have attempted to obtain crystallographic structures of the PPAR ligand-binding

domain in complexes with endogenous fatty acids [17]. Synthetic PPAR activators/ligands have been developed during the early 1990s as these transcription factors represent an important class of drug targets. Studies have put in evidence the important role of the activation of PPAR family in the browning process [8; 18]. Hence, numerous PPAR-activating compounds have been developed, although only a few of them are used in clinic. PPAR $\gamma$ -specific agonists thiazolidinediones such as rosiglitazone or pioglitazone are widely used *in vitro* to induce adipocyte differentiation and have been tested as insulin-sensitizers to treat patients with diabetes. However, adverse secondary effects, including heart failure, have pulled them out of the preferred drugs list in the treatment of hyperglycemia [19; 20]. While the involvement of PPAR $\gamma$  in the browning of white adipocytes is well established, the importance of PPAR $\alpha$  activation in this process remains under debate. Treatment with rosiglitazone or GW7647 (a PPAR $\alpha$ -specific agonist) of human multipotent adipose-derived stem (hMADS) cells promotes the conversion of white adipocytes toward a thermogenic phenotype [18]. The use of compounds developed as relatively specific agonists of PPAR isoforms or panagonists have led to controversial data that are still the subject of debate [21; 22]. Pemafibrate (also known as K-877) has been identified as a selective PPAR $\alpha$  modulator (SPPARM $\alpha$ ) with a very high affinity (kd of 7 nM) and is used in clinics for the treatment of dyslipidemia [23-26]. Long-term exposure of mice to PPAR $\alpha$  agonist pemafibrate suppressed diet-induced obesity through the induction of hepatic FGF21 associated with browning of subcutaneous white adipocytes [27; 28]. However, there is very little data available that describes direct effect of pemafibrate especially in humans.

In the present study we aimed at characterizing the involvement of PPAR $\alpha$  and/or its activation in the formation and function of beige adipocytes. To this end, we combined siRNA knock down and pharmacological treatment with specific PPAR $\alpha$  or PPAR $\gamma$  agonists as well as a PPAR $\gamma$  antagonist using human cell models of adipogenesis and white-to-beige conversion.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Reagents**

Cell culture media, insulin, and trypsin were purchased from Invitrogen (Cergy-Pontoise, France). Fetal bovine serum was from Eurobio (Les Ulis, France). hFGF2 was from Peprotech (Thermo Fisher Scientific), and other reagents were from Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA) or Sigma-Aldrich Chimie (Saint-Quentin-Fallavier, France).

## 2.2. Cell Culture and Stromal Vascular Fraction Preparation

### hMADS cell Culture

The establishment and characterization of human multipotent adipose-derived stem (hMADS) cells have previously been described [29; 30]. Briefly, these cells, isolated from white adipose tissue removed from surgical scraps of infants undergoing surgery, did not enter senescence while exhibiting a diploid karyotype, were non-transformed though they expressed significant telomerase activity, did not show any chromosomal abnormalities after 140 population doublings (PDs), and maintained their differentiation properties after 160–200 PDs [30]. hMADS cells were able to withstand freeze/thaw procedures, and their differentiation could be directed under different culture conditions into various lineages. The cell population that has been studied here was isolated from the pubic region fat pad of a 4-month-old male donor (hMADS3). Cells were seeded at a density of 5000 cells/cm<sup>2</sup> in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 15 mM HEPES, 2.5 ng/mL human Fibroblastic Growth Factor (hFGF2), 60 mg/mL penicillin, and 50 mg/mL streptomycin. hFGF2 was removed when cells reached confluence. Differentiation was induced in a serum-free medium at day two post-confluence (designated as day 0, D0) in DMEM/Ham's F12 (1:1) media supplemented with 10 µg/mL transferrin, 10 nM insulin, 0.2 nM triiodothyronine, 1 µM dexamethasone, and 500 µM isobutyl-methylxanthine for four days. Cells were treated between D2 and D9 with 100 nM rosiglitazone (#71740; Cayman Chemical), a PPAR $\gamma$  agonist, to enable white adipocyte differentiation. At D14, conversion of white to beige adipocytes was induced by a second rosiglitazone treatment for four days as previously described [18; 31-33]. All compounds tested herein were added at D14. For some experiments, cells were treated with 100 nM of PPAR $\alpha$  agonist pemafibrate (#AX8R50; Interchim, Montluçon, France), or 3 µM carbaprostacyclin (cPGI<sub>2</sub>, #18210, Cayman Chemical) to induce white-to-beige adipocyte conversion. One hundred or 300 nM of GW9662 (#70785, Cayman Chemical), a PPAR $\gamma$  antagonist, was added during the conversion periods for some experiments. Media was changed every other day, and cells were used at the indicated days.

### Human Adipose Tissue stroma-vascular fraction (SVF) Preparation and Culture

Abdominal subcutaneous human adipose tissue was collected from healthy patients undergoing surgeries (non-pathologic abdominoplasty) for SVF isolation according to the procedure previously described [34; 35]. SVF cells were plated and maintained in DMEM containing 10% FBS until confluence. Differentiation of primary cultures in white and beige

adipocytes was performed according to the protocol described above for hMADS cells [18; 35].

### 2.3. Oil Red O staining and quantification

Lipid accumulation was visualized by Oil Red O staining of 4% formaldehyde-fixed hMADS adipocytes at D11 or D18. Lipid accumulation was quantified by eluting Oil Red O in 200  $\mu$ L of absolute ethanol. Optical density of 100  $\mu$ L of eluate was measured at 490 nm.

### 2.4. Transfection of siRNAs

PPAR $\alpha$  mRNA inhibition was performed by transfecting a 4-siRNA mix provided as a single reagent against human PPAR $\alpha$  (Dharmacon: L-003434-00-0005), or a non-targeting siRNA (siCtrl; ON-TARGETplus Non-targeting Control Pool) for qPCR and Western-blot analysis (Dharmacon: D-001810-10-05); three controls (siGfp, NOsiRNA and non-transfected cells) for RNAseq analysis) as a control. Briefly, hMADS cells at D10 were incubated with a mixture containing Lipofectamine RNAiMAX Transfection Reagent and siRNA (25 nM) in Opti-MEM Reduced Serum Medium. After 24 h, the transfection medium was replaced by the differentiation medium. .

### 2.5. RNA isolation and analysis

Cells were lysed in Tri-Reagent solution according to the manufacturer's instructions and stored at -80°C till analysis. These procedures followed Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (MIQE) standard recommendations and were conducted as described previously [36]. The oligonucleotide sequences, designed using Primer Express software, are shown in Supplementary Table S1. Quantitative PCR (qPCR) was performed using ONEGreen® Fast qPCR Premix (Ozyme, Saint-Cyr-l'École, France), and assays were run on a StepOne Plus ABI real-time PCR machine (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA, USA). The expression of selected genes was normalized to that of the 36B4 housekeeping gene and then quantified using the comparative- $\Delta$ Ct method.

### 2.6. RNA sequencing (RNA-seq) analysis

To assess the transcriptome differences between hMADS cells expressing or not *PPAR $\alpha$* , three biological replicates were sequenced, three controls (siGFP, NosiRNA and non-transfected cells) were used. Before further analysis, RNA integrity number was verified (RIN>8). All mRNA library preparation, quality examination, and RNA sequencing were conducted by GENEWIZ France Ltd. Functional annotation of gene ontology (GO) enrichment, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), and clustering analysis

were performed from read counts with iDEP 2.0 web application (integrated Differential Expression & Pathway analysis) using edgeR and DESeq2 packages [37]. FASTQ data have been deposited on BioStudies and are accessible through accession number E-MTAB-12937.

### 2.7. Lipolysis Assays

Lipolysis was assessed by measuring glycerol release from differentiated cells at D18. Differentiated adipocytes were insulin-deprived for 60 min; then, fresh medium was added and the cells were immediately subjected to 1  $\mu$ M isoproterenol, a pan  $\beta$ -adrenergic receptor agonist, for 90 min. The sampled medium was used to measure glycerol release with a glycerol colorimetric assay kit (Cayman), according to the manufacturer's instructions. The results were normalized to the protein amount.

### 2.8. Western Blot Analysis

Proteins were extracted from cells or tissues as previously described [38]. Equal amounts of cellular proteins, 30 to 50  $\mu$ g, were separated by electrophoresis using gradient gels (4-15%) and blotted onto PVDF membranes. Following blocking, membranes were incubated with primary antibody overnight at 4°C (anti-UCP1, Abcam #ab10983, dilution 1:1000; anti-TBP, CST #D5C9H, dilution 1:1000; anti pan-ACTIN, CST #8456, dilution 1:1000). Primary antibodies were detected with HRP-conjugated anti-rabbit or anti-mouse immunoglobulins (Promega, Madison, WI, USA). Chemiluminescence obtained after adding Immobilon Forte Western HRP substrate (Merck-Millipore, Burlington, MA, USA) was detected using an Amersham Imager 600 (GE HealthCare, Chicago, IL, USA) and quantified with ImageJ.

### 2.9. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Prism 9.1.1 software (GraphPad Software, Dotmatics, Boston, MA, USA). Data statistical differences between experimental groups were analyzed by one-way ANOVA followed by Šídák's post hoc test or two-way ANOVA followed by Tukey when appropriate. Data are expressed as mean values  $\pm$  SEM as relative expression of control white adipocyte, unless otherwise described in legend. Differences were considered statistically significant when  $P < 0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Transcriptomic analysis confirmed the metabolic reprogramming induced by rosiglitazone and revealed that *PPARα* mRNA silencing enhances the expression of *UCP1* in hMADS beige adipocytes.

While it is well established that activation of *PPARγ* is important to induce the conversion of white adipocytes into beige ones, the role of *PPARα* in this process remains unclear. Here, we aimed to investigate the role of *PPARα* in the rosiglitazone-dependent beiging process by inhibiting its expression before the induction of adipocytes conversion. *PPARα* mRNA silencing was performed on the 10<sup>th</sup> day of differentiation (D10) and cells were induced to convert in the presence of 100 nM rosiglitazone at D14 for 4 days.

Transcriptomic analysis of white and beige hMADS adipocytes indicated a marked effect of rosiglitazone on overall gene expression, as revealed by principal component analysis (Figure 1A) where all cells treated with rosiglitazone clustered together. Gene and KEGG pathways enrichment confirmed metabolic reprogramming, including in PPAR signaling and fatty acid metabolism upon rosiglitazone treatment (Figure 1B). siGFP and siPPARα groups clustered together, indicating a similar overall gene expression profile in the two groups. Extended RNAseq analysis revealed little changes after *PPARα* silencing in white or beige adipocytes as only a few genes were differentially expressed in adipocytes downregulated for *PPARα* compared to control ones (siPPARα vs siGFP; Figure 1C). Of note, data analysis revealed that *UCP1* expression increased upon inhibition of *PPARα* expression in beige adipocytes (Figure 1D). This increase upon *PPARα* expression inhibition was unexpected in view of previous data obtained in hMADS adipocytes treated with *PPARα* agonist, GW7647 [18]. This observation required further investigations and confirmations.

#### 3.2. *PPARα* mRNA silencing enhances the expression of *UCP1* in converted beige adipocytes.

To further decipher the effects of *PPARα* downregulation in white and converted beige adipocytes, we performed qPCR analyses on siCtrl and siPPARα transfected cells. First, we confirmed siRNA inhibition of *PPARα* expression in both white and beige adipocytes with a 90% decrease of *PPARα* mRNA levels (Figure 2A). On the contrary, the expression of the other PPAR isoforms ( $\delta$  and  $\gamma 2$ ) did not present any significant variation upon *PPARα* downregulation (Figure 2A). In these conditions, the expression of adipogenic markers (*Plin1* and *Fabp4*) was not affected by the silencing of *PPARα* expression (Figure 2B). *UCP1* mRNA expression in beige hMADS adipocytes induced by rosiglitazone was 60 % higher in



the absence of *PPARα* expression compared to siCtrl (Figure 2C). This increase in *UCP1* mRNA expression was associated with a similar increase at the protein level (Figure 2D). Except for *UCP1*, other thermogenic (*CPT1M*, *CIDEA*, *GK*) markers expression was not affected by the inhibition of *PPARα* expression (Figure 2E). Among few gene candidates that were affected by the inhibition of *PPARα* expression, *KCNK3*, *MCU*, *TAP1* and *NLRC5* were identified as potential differential candidate by RNAseq analysis (Figure 1D), qPCR analysis of *KCNK3*, *MCU* and *TAP1* did not revealed any differences upon inhibition of *PPARα* expression (data not shown) while *NLRC5* only showed tendencies for increased expression (Figure 2E).

To further characterize the effect of *PPARα* mRNA silencing, we investigated thermogenic associated functions such as lipolysis. Isoproterenol-stimulated glycerol release was increased in beige adipocytes downregulated for *PPARα* compared to basal glycerol release in beige cells treated with siCtrl (Supplementary Figure 1). Basal lipolysis was not modified. In white adipocytes, inhibition of *PPARα* slightly increased isoproterenol-stimulated glycerol release without reaching significant level (Supplementary Figure 1). Furthermore, as *UCP1* is a mitochondrial protein, we investigated the relative mitochondrial DNA content in adipocytes treated with siPPARα. Of note, mitochondrial DNA content increased upon rosiglitazone treatment, *PPARα* inhibition led to a further increase in agreement with the increase in *UCP1* mRNA and protein content (Supplementary Figure 1B and Figure 2C and 2D).

### **3.3. Effects of PPARα silencing is consistent in various models of beiging**

To determine whether the *Ucp1* induction in thermogenic adipocytes observed in hMADS cells was specific or not to these cells, we investigated the role of *PPARα* in another human adipocyte model. We performed silencing experiments in primary cultures of adipocytes derived from human stroma-vascular fraction (hSVF) in a similar way than in hMADS cells. Inhibition of *PPARα* expression reached the same efficiency in both cell types (90% decreases). In addition, we found that, as observed in hMADS-derived adipocytes, inhibition of *PPARα* expression increased *UCP1* mRNA level by 60% in beige adipocytes induced with 100 nM of rosiglitazone while classical white adipocyte marker *PLIN1* expression was not modified (Figure 3A).

To ensure that this effect was not rosiglitazone-dependent, we used carbaprostacyclin (cPGI2), a stable analog of prostacyclin, to induce white to beige adipocyte conversion in hMADS derived adipocytes as described previously [32]. siRNA *PPARα* silencing also

allowed the induction of *UCP1* expression by 46% upon cPGI2 treatment compared to siCtrl-transfected adipocytes (Figure 3B). Similar results were obtained in primary cultures of adipocytes derived from human stroma-vascular fraction treated with cPGI2 (data not shown). These results indicate that *PPARα* silencing enhances beiging in two models of human adipocyte independently of browning inducers used.

#### **3.4. PPAR $\gamma$ antagonist GW9662 alleviates UCP1 induction of beige adipocyte triggered by *PPARα* mRNA silencing.**

To unravel the crosstalk between *PPARα* and *PPAR $\gamma$*  at play upon white-to-beige adipocyte conversion, we blocked *PPAR $\gamma$*  action with the GW9662 specific antagonist in hMADS-derived adipocyte treated with si*PPARα* and converted through rosiglitazone treatment. Measure of *UCP1* mRNA showed a dose-dependent decrease in siCtrl-expressing beige cells, indicating that GW9662 treatment inhibited the conversion of adipocytes induced by rosiglitazone (Figure 4A, grey bars). As shown above, *PPARα* mRNA silencing induced an increase of *UCP1* expression in beige hMADS adipocytes, both at the mRNA and protein levels (Figure 2C and 2D and Figure 4A). *UCP1* mRNA and protein dosage showed that this induction was inhibited by GW9662 treatment in a dose-dependent-manner (Figure 4A, red bars on left panel, and right panel). Moreover, the expression of other *PPAR $\gamma$*  targets such as *CPT1M* or *FABP4* tended to be reduced by GW9662 in beige adipocytes transfected with both si*PPARα* and siCtrl (Figure 4B). Adipogenic marker *PLINI* expression was not affected by *PPAR $\gamma$*  antagonist (Figure 4B). The levels of the other *PPAR* isoforms ( $\delta$  and  $\gamma$ 2) were not modified by the inhibition of *PPARα* expression nor the treatment with GW9662 (Figure 4C). Altogether, these data suggest that *PPARα* could act as a negative modulator in *PPAR $\gamma$* -dependent beiging of human adipocyte.

#### **3.5. Pemafibrate induces UCP1 expression in human white adipocytes.**

*PPARα* agonists have been developed with low specificity at least in the adipocyte context, and pemafibrate has been identified as the most selective *PPARα* modulator (SPPARM $\alpha$ ) on the market, with an EC50 around 7 nM [39; 40]. We aimed to investigate the contribution of *PPARα* to beiging at a pharmacological level as inhibition of its expression led to an enhanced rosiglitazone-induced *UCP1* expression. For this purpose, hMADS cells were differentiated into white adipocytes for 14 days and then treated with various amounts of

pemafibrate for 4 days. hMADS adipocytes treated with similar doses of rosiglitazone were used as controls. Rosiglitazone and pemafibrate treatments did not affect the morphological shape of the cells, nor did they affect their lipid content as shown by Oil Red O staining (Figure 5A). Treatment with 100 nM of pemafibrate induced the expression of UCP1 at the protein level (Figure 5B), but to a lesser extent than rosiglitazone (50%). Pemafibrate also increased the mRNA level of several thermogenic markers such as *UCP1*, *CPT1M*, *PDK4* and *ANGPTL4* (Figure 5C). However, pemafibrate treatment was not as effective as rosiglitazone: higher doses were required to reach similar levels (Figure 5C). Pemafibrate is able to promote adipocyte beiging with a lower potency than rosiglitazone. The expression of the three PPAR isoforms ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) was not altered by pemafibrate or rosiglitazone treatment (Figure 5D). Finally, simultaneous treatment with both activators (rosiglitazone and pemafibrate) did not lead to any additive or synergistic effects, suggesting that both compounds use the same signaling pathway (Supplementary Figure 2).

### **3.6. PPAR $\gamma$ antagonist GW9662 interferes with PPAR $\alpha$ activation induced by pemafibrate.**

As both PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  are expressed in adipocytes, we then aimed to characterize whether pemafibrate effects were indeed mediated by PPAR $\alpha$  activation. To this purpose, we treated hMADS white adipocytes with pemafibrate in the presence of various amounts of PPAR $\gamma$  antagonist (GW9662). Cells treated with rosiglitazone were used as controls. As expected, *UCP1* induction by rosiglitazone was inhibited by GW9662 treatment (Figure 6A). Unexpectedly, the expression of *UCP1* by pemafibrate was also affected by the PPAR $\gamma$  antagonist at all doses (Figure 6A). Rosiglitazone and pemafibrate effects were also observed at the protein level as UCP1 protein content decreased in a dose dependent manner in the presence of GW9662 (Figure 6A bottom). The level of other PPAR $\gamma$  target genes such as *FABP4* and *CPT1M* was also slightly decreased by 300 nM of GW9662. *PLIN1* expression, which is not a PPAR target, was not affected (Figure 6B). The expression of the three PPARs was not affected (Figure 6C).

In order to validate these observations, we tested the effects of pemafibrate in hSVF cells differentiated into white adipocytes and treated with 100 nM of rosiglitazone or pemafibrate in the presence of various amounts of GW9662 (Figure 6D). In agreement with results obtained in hMADS adipocytes, pemafibrate-induced *UCP1* and *CPT1M* expression was inhibited by the PPAR $\gamma$  antagonist GW9662 similarly to that induced by rosiglitazone. Our

observations question the specificity of pemafibrate for PPAR $\alpha$  in an adipose context. Altogether, our findings suggest an effect of pemafibrate mainly through the activation of PPAR $\gamma$ .

### **3.7. Effects of pemafibrate on adipocytes are likely due to PPAR $\gamma$ activation.**

Induction of thermogenic markers by pemafibrate in hMADS white adipocytes is abolished by PPAR $\gamma$  antagonist, suggesting that its beiging effect may not be mediated through PPAR $\alpha$ . To test this hypothesis, we transfected hMADS white adipocytes with siRNA against *PPAR $\alpha$*  at D10, then treated the cells simultaneously with pemafibrate and GW9662 for four days. At D18, *PPAR $\alpha$*  mRNA level was decreased by 92% in siPPAR $\alpha$  compared to cells treated with siCtrl (Figure 7A, left). Of note, *PPAR $\delta$*  and *PPAR $\gamma$ 2* expression was not affected by the downregulation of *PPAR $\alpha$*  (Figure 7A, right). This strong inhibition of *PPAR $\alpha$*  expression did not affect pemafibrate-dependent induction of UCP1 mRNA and protein (Figure 7B). However, this induction was inhibited by the PPAR $\gamma$  antagonist GW9662 in the presence or absence of *PPAR $\alpha$*  (Figure 7B). Consistently, the expression of PPAR $\gamma$ -target genes *CPT1M* and *FABP4* was reduced by PPAR $\gamma$  antagonist in both adipocytes transfected with siCtrl or siPPAR $\alpha$ , whereas *PLIN1* was not (Figure 7C).

As our observations strongly suggest that pemafibrate induces adipocyte beiging through PPAR $\gamma$  and not PPAR $\alpha$ , we asked whether pemafibrate was able to induce adipogenesis, another process known to be dependent on PPAR $\gamma$ . Indeed, pemafibrate induced adipogenesis in hMADS cells when added at the same concentration as rosiglitazone between D2 and D9. At the morphological level, pemafibrate-induced adipocytes appeared similar to those induced by rosiglitazone, albeit showing a lower triglyceride accumulation, and RNA and DNA content (Supplementary Figure 3A, 3B and 3C). The mRNA levels of adipogenic markers *FASN*, *GLUT1*, and *PLIN1* were similar in adipocyte induced by pemafibrate or rosiglitazone. However, the expression of *FABP4* and lipases such as *HSL* or *LPL* was reduced in pemafibrate-induced adipocytes compared to those induced by rosiglitazone (Supplementary Figure 3D). Our observations are reinforced by experiments intended to inhibit the expression of PPAR $\gamma$  or PPAR $\alpha$  before the process of adipogenesis in hMADS cells. As expected, the silencing of PPAR $\gamma$  led to the complete inhibition of adipogenesis at the morphological level, whatever the PPAR agonist used (Supplementary Figure 4). Silencing PPAR $\alpha$  slightly increased triglyceride accumulation in rosiglitazone-induced adipocyte, in agreement with our data regarding adipocyte beiging. Pemafibrate-induced differentiation was similar in the

absence or presence of PPAR $\alpha$  (Supplementary Figure 4). These observations, highly suggesting that pemafibrate is acting through the activation of PPAR $\gamma$ , are further validated when using a PPAR $\gamma$  antagonist (Supplementary Figure 4). Indeed, GW9662 treatment reduced lipid accumulation induced by both rosiglitazone and pemafibrate. Altogether, our data clearly indicate that pemafibrate, although known as a potent PPAR $\alpha$  agonist, induces adipocyte beiging and differentiation through the activation of PPAR $\gamma$ .

#### 4. Discussion

This study investigates the role of PPAR $\alpha$  and its activation in human model for both adipogenesis and adipocyte beiging. While previous studies have put in evidence that hepatic PPAR $\alpha$  activation was crucial for WAT beiging, direct effect of PPAR $\alpha$  activation in adipocyte remains unclear, especially in human. Fibrates have been developed and used since the 1960s as hypolipidemic agents via hepatic PPAR $\alpha$  activation [41-44]. Fenofibrate is unable to induce the conversion of hMADS adipocytes toward a thermogenic phenotype. In humans, pemafibrate has been recently approved in Japan for the treatment of hyperlipidemia. However, no study investigated the role of pemafibrate in human adipocytes.

Our results demonstrate that pemafibrate is able to induce *UCP1* expression in two different models of human adipocytes. This *in vitro* approach avoids the pleiotropic effects of pemafibrate on other cell types, as reported previously. Indeed, several studies have put in evidence that pemafibrate might act on adipocyte thermogenic capacity by increasing liver and plasma FGF21 levels in mice [27; 28]. Beneficial effect of pemafibrate on the WAT thermogenic program are absent in FGF21 KO mice [27]. FGF21 induction mediated by PPAR $\alpha$  activation in liver is crucial to improve whole-body glucose metabolism in obese mice [45]. Here we show that pemafibrate induces *UCP1* expression in human adipocytes. hMADS adipocytes do express *Fgfr1* and *Klb* but display very low levels of *Fgf21*. In our hands, FGF21 treatment failed to increase *Ucp1* expression in hMADS adipocytes (data not shown).

We show that pemafibrate, an agonist supposedly specific for PPAR $\alpha$ , induces *UCP1* expression even in the absence of PPAR $\alpha$ . Moreover, this induction is inhibited by PPAR $\gamma$  antagonist GW9662. These results highly suggest that pemafibrate-dependent *UCP1* expression in adipocyte is more likely due to PPAR $\gamma$  activation, rather than PPAR $\alpha$  activation. This study also demonstrates that pemafibrate is able to induce adipogenesis, another process under the control of PPAR $\gamma$ . We confirm that pemafibrate-dependent adipogenesis is mediated by PPAR $\gamma$  activation as it is not affected by the inhibition of PPAR $\alpha$  but completely suppressed by PPAR $\gamma$  silencing. *In vivo*, pemafibrate could drive the secretion of hepatic FGF21 by activating PPAR $\alpha$  while simultaneously activating PPAR $\gamma$  in adipose tissue. In the latter, pemafibrate seems to be a potent activator of PPAR $\gamma$ . Although several crystal structures of PPAR $\alpha$ -Ligand Binding Domain (LBD)[17; 40; 46] with pemafibrate are available in the Protein Data Bank, more studies in physiological context are needed to better understand the effects of pemafibrate. Altogether, our data questions the specificity of

pemafibrate and indicates that pemafibrate represents a PPAR $\gamma$  activator in an adipocyte context.

PPAR $\gamma$  synthetic agonists such as rosiglitazone can induce the thermogenic program in mice WAT and the white-to-beige conversion in human adipocytes [8; 31]. Thiazolidinediones used as insulin sensitizer, such as pioglitazone and rosiglitazone, have been associated with body weight gain attributed to increased fat mass, especially for subcutaneous depots, and associated with adverse effects such as heart failure [47]. These molecules are no longer appropriate for clinical use. Moreover, several studies have shown that dual PPAR $\alpha/\gamma$  activation is superior to selective PPAR $\gamma$  activation at inducing white fat browning in vivo [48; 49]. Mechanistically, the superiority of dual PPAR $\alpha/\gamma$  activators is mediated at least in part via a PPAR $\alpha$ -driven increase in FGF21. Combined treatment with rosiglitazone and FGF21 results in a synergistic increase in UCP1 mRNA levels both in vitro and in vivo. However, several dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonists have been shown to induce tumors in rodents. Tesaglitazar is a dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonist that is more potent on PPAR $\gamma$  than on PPAR $\alpha$ . Tesaglitazar and muraglitazar, showing improved metabolic parameters, were abandoned when clinical trials showed either increased risk for cardiovascular events or other adverse effects, such as increased peripheral edema and creatine phosphokinase. Tesaglitazar causes cardiac dysfunction by inhibiting SIRT1-PGC1 $\alpha$  axis [50]. Pemafibrate could be a new dual PPAR $\alpha/\gamma$  activation but with a good safety profile.

Using human cell models, we also show herein that rosiglitazone treatment leads to an enhanced expression of UCP1 in the absence of PPAR $\alpha$ . However, our RNAseq data did not allow the identification of the involved mechanisms. Thus, it is tempting to speculate that PPAR $\alpha$  might interfere at a transcriptional level in the protein complexes to compete with PPAR $\gamma$  in the recruitment of coregulators at the distal enhancer part of the promoter [51]. Further studies are necessary to shed light on the involved mechanisms. PPAR $\gamma$  is an important regulator of both white and brown adipocyte differentiation and function. By contrast, PPAR $\alpha$  seems to be dispensable for adipogenesis and beiging. PPAR $\alpha$  may probably play a negative role for UCP1 expression mediated by PPAR $\gamma$  activation. Pemafibrate can induce adipogenesis and UCP1 expression in adipocyte more likely due to PPAR $\gamma$  activation, rather than PPAR $\alpha$  activation. However, these effects are weaker compared to rosiglitazone treatment. To date, no adverse effect associated to with PPAR $\gamma$  activation has been reported with pemafibrate use, and pemafibrate treatment ameliorated lipids abnormalities in patients with type 2 diabetes [51]. Our data identify pemafibrate as a potential therapeutic tool to

control body weight and metabolic disorders, most probably without the secondary effects of rosiglitazone and withdrawn dual PPAR $\alpha$ / $\gamma$  activators.

## **5. Conclusion**

This study investigates the role of PPAR $\alpha$  and its activation in beiging of human adipocytes. We show that PPAR $\alpha$  expression in adipocytes is a brake for PPAR $\gamma$ -induced UCP1 expression and that pemafibrate is a PPAR $\gamma$  agonist for adipogenesis and beiging. These observations are in favor of a crucial role of pemafibrate in the white-to-beige adipocyte conversion.



**Acknowledgments:** This work was supported by CNRS, Inserm and by “HepAdialogue” from the French National Research Agency (ANR) ANR-17-CE14-0015, “AdipoPiezo” and by the Nutricia Research Foundation. PLB is supported by grants from ANR and Université Côte d’Azur (ATER). This work was realized through the Adipo-Cible Research Study Group, supported by the French government through the France 2030 investment plan managed by the National Research Agency (ANR), as part of the Initiative of Excellence of Université Côte d’Azur under reference number ANR-15-IDEX-01. We thank Dr. Vanessa Lanoue for editing the manuscript.

**CRedit authorship contribution statement:**

**Pierre-Louis Batrow:** Writing, review & editing, Writing, original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis

**Christian H Roux:** Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis.

**Nadine Gautier:** review & editing, Validation, Methodology, Data curation

**Luc Martin:** Formal analysis, Validation, Investigation

**Brigitte Sibille:** Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis.

**Hervé Guillou:** Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis.

**Catherine Postic:** Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis.

**Dominique Langin:** Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis.

**Isabelle Mothe-Satney:** Writing, review & editing, Writing, original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis

**Ez-Zoubir Amri:** Writing, review & editing, Writing, original draft, Data curation, Conceptualization, Funding acquisition

All authors approved the final version of the manuscript.

**Conflicts of interest:**

The authors declare no conflict of interest

## References

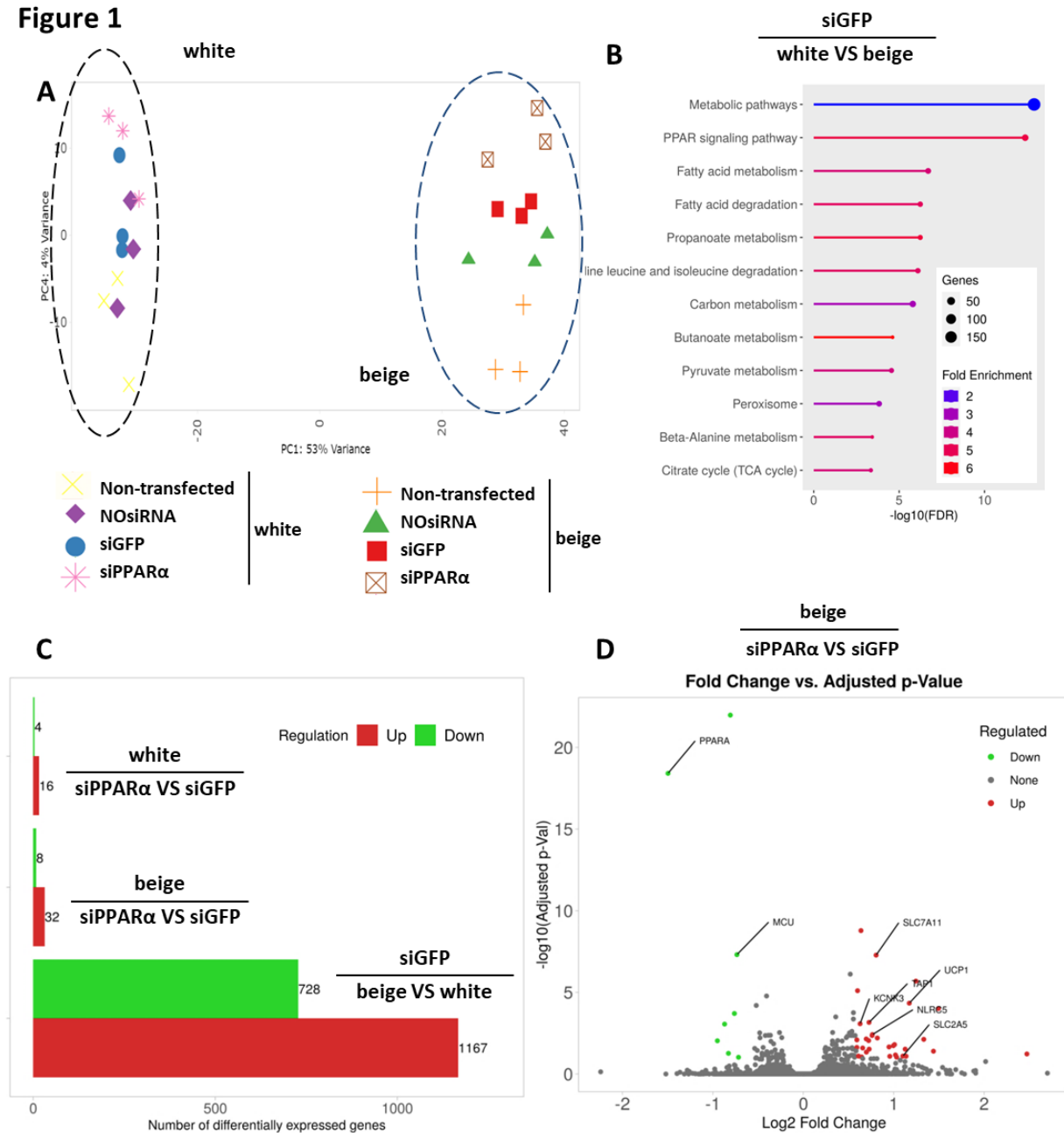
- [1] Collaboration, N.C.D.R.F., 2024. Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *Lancet* 403(10431):1027-1050.
- [2] Cinti, S., 1999. Adipose tissues and obesity. *Italian Journal of Anatomy and Embryology* 104(2):37-51.
- [3] Cinti, S., 2000. Anatomy of the adipose organ. *Eat Weight Disord* 5(3):132-142.
- [4] Cannon, B., Nedergaard, J., 2004. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews* 84(1):277-359.
- [5] Rahbani, J.F., Bunk, J., Lagarde, D., Samborska, B., Roesler, A., Xiao, H., et al., 2024. Parallel control of cold-triggered adipocyte thermogenesis by UCP1 and CKB. *Cell Metab* 36(3):526-540 e527.
- [6] Vargas-Castillo, A., Sun, Y., Smythers, A.L., Grauvogel, L., Dumesic, P.A., Emont, M.P., et al., 2024. Development of a functional beige fat cell line uncovers independent subclasses of cells expressing UCP1 and the futile creatine cycle. *Cell Metab* 36(9):2146-2155 e2145.
- [7] Wang, T., Sharma, A.K., Wu, C., Maushart, C.I., Ghosh, A., Yang, W., et al., 2024. Single-nucleus transcriptomics identifies separate classes of UCP1 and futile cycle adipocytes. *Cell Metab* 36(9):2130-2145 e2137.
- [8] Petrovic, N., Walden, T.B., Shabalina, I.G., Timmons, J.A., Cannon, B., Nedergaard, J., 2010. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *Journal of Biological Chemistry* 285(10):7153-7164.
- [9] Nedergaard, J., Bengtsson, T., Cannon, B., 2007. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 293(2):E444-452.
- [10] Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., et al., 2009. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *New England Journal of Medicine* 360(15):1518-1525.
- [11] Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A.B., et al., 2009. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *New England Journal of Medicine* 360(15):1509-1517.
- [12] Rosenwald, M., Perdikari, A., Rulicke, T., Wolfrum, C., 2013. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nature Cell Biology* 15(6):659-667.
- [13] Wang, Q.A., Tao, C., Gupta, R.K., Scherer, P.E., 2013. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nature Medicine* 19(10):1338-1344.
- [14] Corrales, P., Vidal-Puig, A., Medina-Gomez, G., 2018. PPARs and Metabolic Disorders Associated with Challenged Adipose Tissue Plasticity. *Int J Mol Sci* 19(7).
- [15] Kersten, S., 2002. Peroxisome proliferator activated receptors and obesity. *European Journal of Pharmacology* 440(2-3):223-234.

- [16] Schoonjans, K., Staels, B., Auwerx, J., 1996. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *Journal of Lipid Research* 37(5):907-925.
- [17] Kamata, S., Oyama, T., Saito, K., Honda, A., Yamamoto, Y., Suda, K., et al., 2020. PPARalpha Ligand-Binding Domain Structures with Endogenous Fatty Acids and Fibrates. *iScience* 23(11):101727.
- [18] Barquissau, V., Beuzelin, D., Pisani, D.F., Beranger, G.E., Mairal, A., Montagner, A., et al., 2016. White-to-brite conversion in human adipocytes promotes metabolic reprogramming towards fatty acid anabolic and catabolic pathways. *Mol Metab* 5(5):352-365.
- [19] Xu, B., Xing, A., Li, S., 2022. The forgotten type 2 diabetes mellitus medicine: rosiglitazone. *Diabetol Int* 13(1):49-65.
- [20] Giglio, R.V., Papanas, N., Rizvi, A.A., Ciaccio, M., Patti, A.M., Ilias, I., et al., 2022. An Update on the Current and Emerging Use of Thiazolidinediones for Type 2 Diabetes. *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 58(10).
- [21] De Filippis, B., Granese, A., Ammazalorso, A., 2024. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor agonists and antagonists: an updated patent review (2020-2023). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*:1-16.
- [22] Changizi, Z., Kajbaf, F., Moslehi, A., 2023. An Overview of the Role of Peroxisome Proliferator-activated Receptors in Liver Diseases. *J Clin Transl Hepatol* 11(7):1542-1552.
- [23] Hennyer, N., Duplan, I., Paquet, C., Vanhoutte, J., Woitrain, E., Touche, V., et al., 2016. The novel selective PPARalpha modulator (SPPARMalpha) pemafibrate improves dyslipidemia, enhances reverse cholesterol transport and decreases inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 249:200-208.
- [24] Honda, Y., Kessoku, T., Ogawa, Y., Tomeno, W., Imajo, K., Fujita, K., et al., 2017. Pemafibrate, a novel selective peroxisome proliferator-activated receptor alpha modulator, improves the pathogenesis in a rodent model of nonalcoholic steatohepatitis. *Scientific Reports* 7:42477.
- [25] Ishibashi, S., Yamashita, S., Arai, H., Araki, E., Yokote, K., Suganami, H., et al., 2016. Effects of K-877, a novel selective PPARalpha modulator (SPPARMalpha), in dyslipidaemic patients: A randomized, double blind, active- and placebo-controlled, phase 2 trial. *Atherosclerosis* 249:36-43.
- [26] Blair, H.A., 2017. Pemafibrate: First Global Approval. *Drugs* 77(16):1805-1810.
- [27] Araki, M., Nakagawa, Y., Oishi, A., Han, S.I., Wang, Y., Kumagai, K., et al., 2018. The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha (PPARalpha) Agonist Pemafibrate Protects against Diet-Induced Obesity in Mice. *Int J Mol Sci* 19(7).
- [28] Egusa, G., Ohno, H., Nagano, G., Sagawa, J., Shinjo, H., Yamamoto, Y., et al., 2023. Selective activation of PPARalpha maintains thermogenic capacity of beige adipocytes. *iScience* 26(7):107143.
- [29] Rodriguez, A.M., Elabd, C., Amri, E.Z., Ailhaud, G., Dani, C., 2005. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie* 87(1):125-128.
- [30] Rodriguez, A.M., Pisani, D., Dechesne, C.A., Turc-Carel, C., Kurzenne, J.Y., Wdziekonski, B., et al., 2005. Transplantation of a multipotent cell population from

- human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *Journal of Experimental Medicine* 201(9):1397-1405.
- [31] Elabd, C., Chiellini, C., Carmona, M., Galitzky, J., Cochet, O., Petersen, R., et al., 2009. Human multipotent adipose-derived stem cells differentiate into functional brown adipocytes. *Stem Cells* 27(11):2753-2760.
- [32] Ghandour, R.A., Giroud, M., Vegiopoulos, A., Herzig, S., Ailhaud, G., Amri, E.Z., et al., 2016. IP-receptor and PPARs trigger the conversion of human white to brite adipocyte induced by carbaprostacyclin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1861(4):285-293.
- [33] Pisani, D.F., Barquissau, V., Chambard, J.C., Beuzelin, D., Ghandour, R.A., Giroud, M., et al., 2018. Mitochondrial fission is associated with UCP1 activity in human brite/beige adipocytes. *Mol Metab* 7:35-44.
- [34] Pisani, D.F., Beranger, G.E., Corinus, A., Giroud, M., Ghandour, R.A., Altirriba, J., et al., 2016. The K<sup>+</sup> channel TASK1 modulates beta-adrenergic response in brown adipose tissue through the mineralocorticoid receptor pathway. *FASEB Journal* 30(2):909-922.
- [35] Rodbell, M., 1964. Metabolism of Isolated Fat Cells. I. Effects of Hormones on Glucose Metabolism and Lipolysis. *Journal of Biological Chemistry* 239:375-380.
- [36] Pisani, D.F., Djedaini, M., Beranger, G.E., Elabd, C., Scheideler, M., Ailhaud, G., et al., 2011. Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells into "Brite" (Brown-in-White) Adipocytes. *Frontiers in Endocrinology* 2:87.
- [37] Ge, S.X., Son, E.W., Yao, R., 2018. iDEP: an integrated web application for differential expression and pathway analysis of RNA-Seq data. *BMC Bioinformatics* 19(1):534.
- [38] Pisani, D.F., Ghandour, R.A., Beranger, G.E., Le Faouder, P., Chambard, J.C., Giroud, M., et al., 2014. The omega6-fatty acid, arachidonic acid, regulates the conversion of white to brite adipocyte through a prostaglandin/calcium mediated pathway. *Mol Metab* 3(9):834-847.
- [39] Ferri, N., Corsini, A., Sirtori, C., Ruscica, M., 2017. PPAR-alpha agonists are still on the rise: an update on clinical and experimental findings. *Expert Opin Investig Drugs* 26(5):593-602.
- [40] Yamamoto, Y., Takei, K., Arulmozhiraja, S., Sladek, V., Matsuo, N., Han, S.I., et al., 2018. Molecular association model of PPARalpha and its new specific and efficient ligand, pemafibrate: Structural basis for SPPARMalpha. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 499(2):239-245.
- [41] Montaigne, D., Butruille, L., Staels, B., 2021. PPAR control of metabolism and cardiovascular functions. *Nature Reviews: Cardiology* 18(12):809-823.
- [42] Kersten, S., Desvergne, B., Wahli, W., 2000. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 405(6785):421-424.
- [43] Kersten, S., Wahli, W., 2000. Peroxisome proliferator activated receptor agonists. *EXS* 89:141-151.
- [44] Green, K.G., Inman, W.H., Thorp, J.M., 1963. Multicentre Trial in the United Kingdom and Ireland of a Mixture of Ethyl Chlorophenoxyisobutyrate and Androsterone (Atromid). A Preliminary Report. *Journal of Atherosclerosis Research* 3:593-616.

- [45] Goto, T., Hirata, M., Aoki, Y., Iwase, M., Takahashi, H., Kim, M., et al., 2017. The hepatokine FGF21 is crucial for peroxisome proliferator-activated receptor-alpha agonist-induced amelioration of metabolic disorders in obese mice. *Journal of Biological Chemistry* 292(22):9175-9190.
- [46] Kawasaki, M., Kambe, A., Yamamoto, Y., Arulmozhiraja, S., Ito, S., Nakagawa, Y., et al., 2020. Elucidation of Molecular Mechanism of a Selective PPARalpha Modulator, Pemafibrate, through Combinational Approaches of X-ray Crystallography, Thermodynamic Analysis, and First-Principle Calculations. *Int J Mol Sci* 21(1).
- [47] Choi, S.S., Park, J., Choi, J.H., 2014. Revisiting PPARgamma as a target for the treatment of metabolic disorders. *BMB Rep* 47(11):599-608.
- [48] Kroon, T., Harms, M., Maurer, S., Bonnet, L., Alexandersson, I., Lindblom, A., et al., 2020. PPARgamma and PPARalpha synergize to induce robust browning of white fat in vivo. *Mol Metab* 36:100964.
- [49] Miranda, C.S., Silva-Veiga, F.M., Santana-Oliveira, D.A., Vasques-Monteiro, I.M.L., Daleprane, J.B., Souza-Mello, V., 2024. PPARalpha/gamma synergism activates UCP1-dependent and -independent thermogenesis and improves mitochondrial dynamics in the beige adipocytes of high-fat fed mice. *Nutrition* 117:112253.
- [50] Kalliora, C., Kyriazis, I.D., Oka, S.I., Lieu, M.J., Yue, Y., Area-Gomez, E., et al., 2019. Dual peroxisome-proliferator-activated-receptor-alpha/gamma activation inhibits SIRT1-PGC1alpha axis and causes cardiac dysfunction. *JCI Insight* 5(17).
- [51] Araki, E., Yamashita, S., Arai, H., Yokote, K., Satoh, J., Inoguchi, T., et al., 2018. Effects of Pemafibrate, a Novel Selective PPARalpha Modulator, on Lipid and Glucose Metabolism in Patients With Type 2 Diabetes and Hypertriglyceridemia: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Diabetes Care* 41(3):538-546.

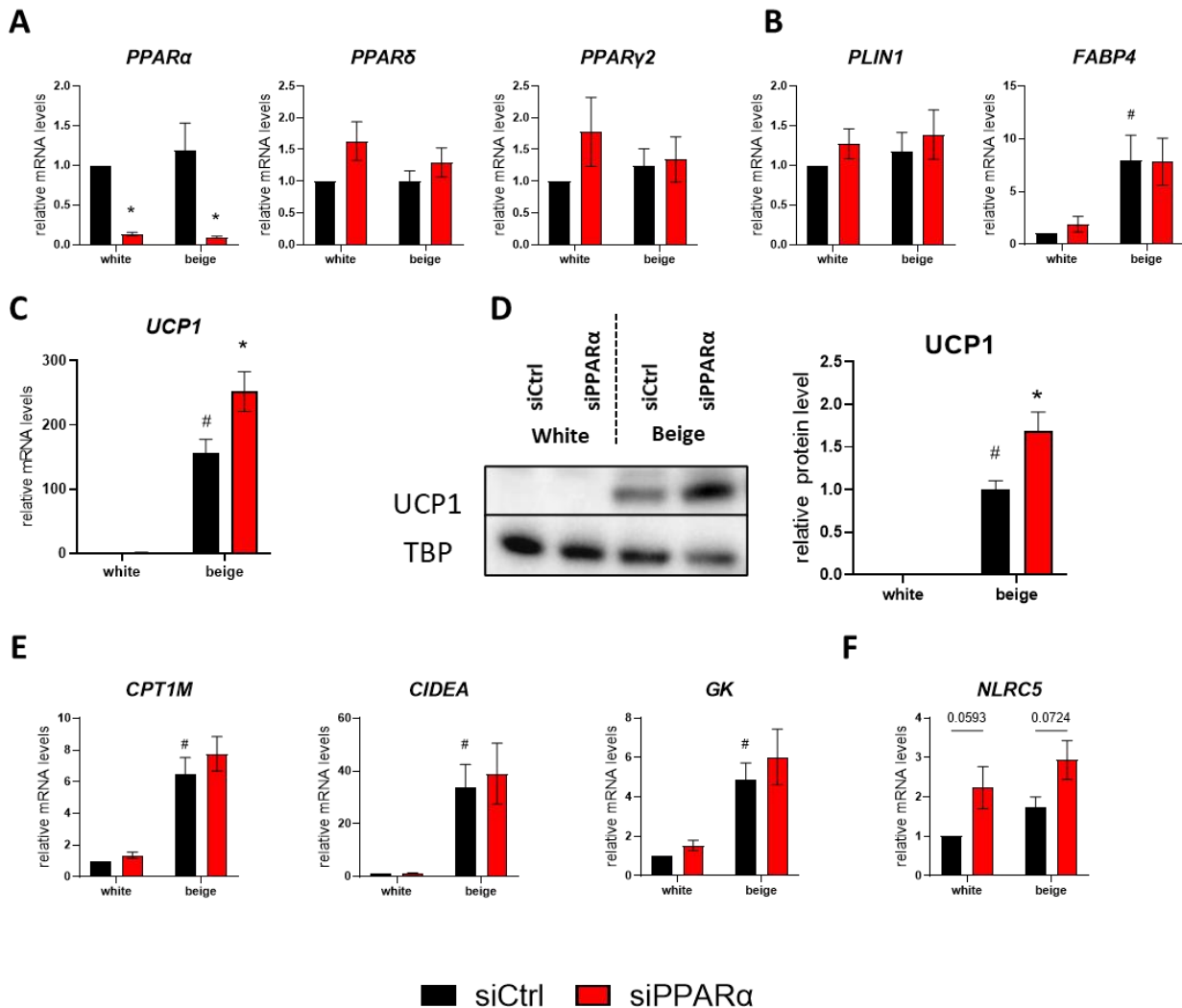
**Figure 1**



**Figure 1. Transcriptomic analysis confirmed the metabolic reprogramming induced by rosiglitazone and revealed that PPAR $\alpha$  mRNA silencing enhances the expression of UCP1 in hMADS beige adipocytes.**

Transcriptomic analysis of hMADS adipocytes transfected with different siRNAs at D10 after differentiation and then induced to convert to beige adipocyte on D14 in the presence of 100 nM rosiglitazone. (A) Principal component analysis. (B) Gene and KEGG metabolic pathways enrichment upon rosiglitazone treatment. (C) Numbers of differentially expressed genes, down (green) and up-regulated (red) upon siRNA transfection in white or beige hMADS adipocytes. (D) Volcano plot from RNAseq data (FDR cutoff: 0.1, min fold-change: 1.5).

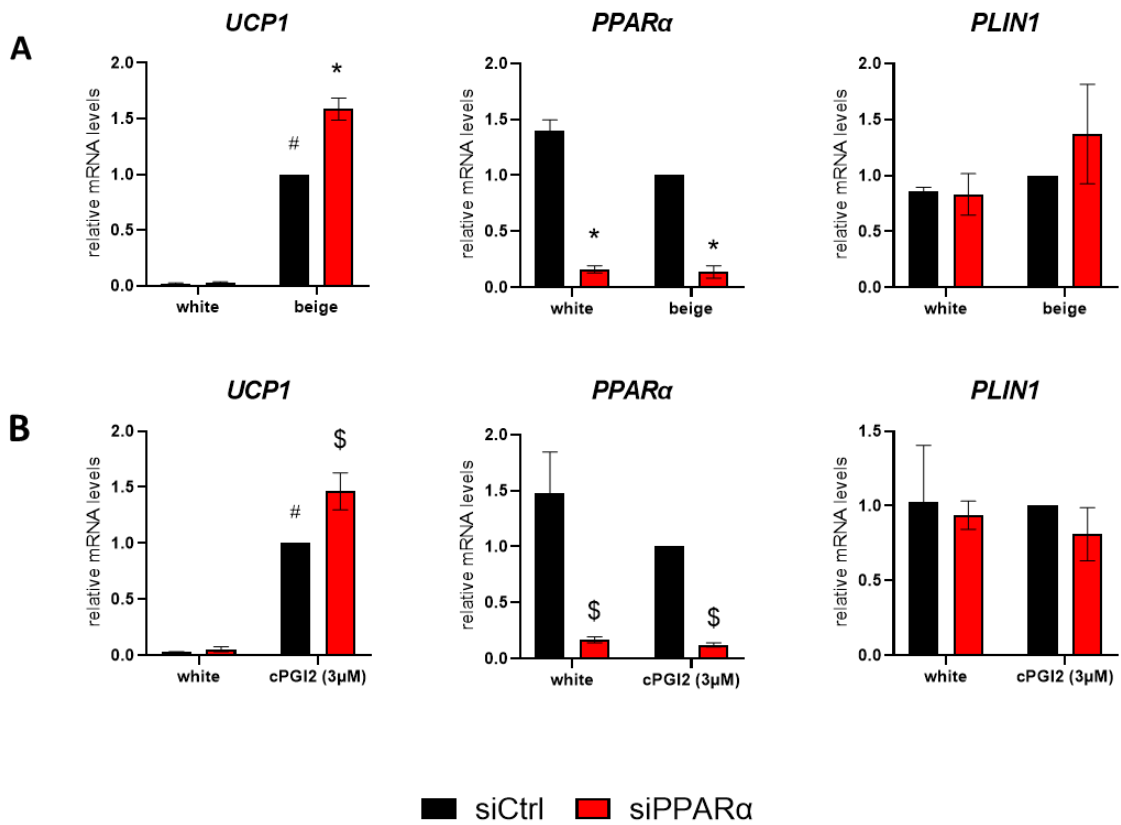
**Figure 2**



**Figure 2. *PPARα* mRNA silencing enhances the expression of UCP1 in hMADS beige adipocytes.**

hMADS cells were induced to differentiate into adipocyte, transfected with siRNA (black bars siCtrl and red bars siPPAR $\alpha$ ) at D10. At D14, cells were induced or not to convert into beige adipocytes using 100 nM rosiglitazone. (A) *PPARs*, (B) adipogenic markers *PLIN1* and *FABP4*, (C) *UCP1* mRNA levels were measured. (D) 40  $\mu$ g total protein extracts were analyzed by Western blot. for UCP1 content, (E) Thermogenic markers *CPT1M*, *CIDEA*, *GK*, (F) *NLRC5* mRNA levels were measured. Histograms display mean  $\pm$  SEM of 9 independent experiments except 3 for (D). Statistics by two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test,  $p < 0.05$  considered as significant: #, vs white siCtrl; \*, vs beige siCtrl.

**Figure 3**



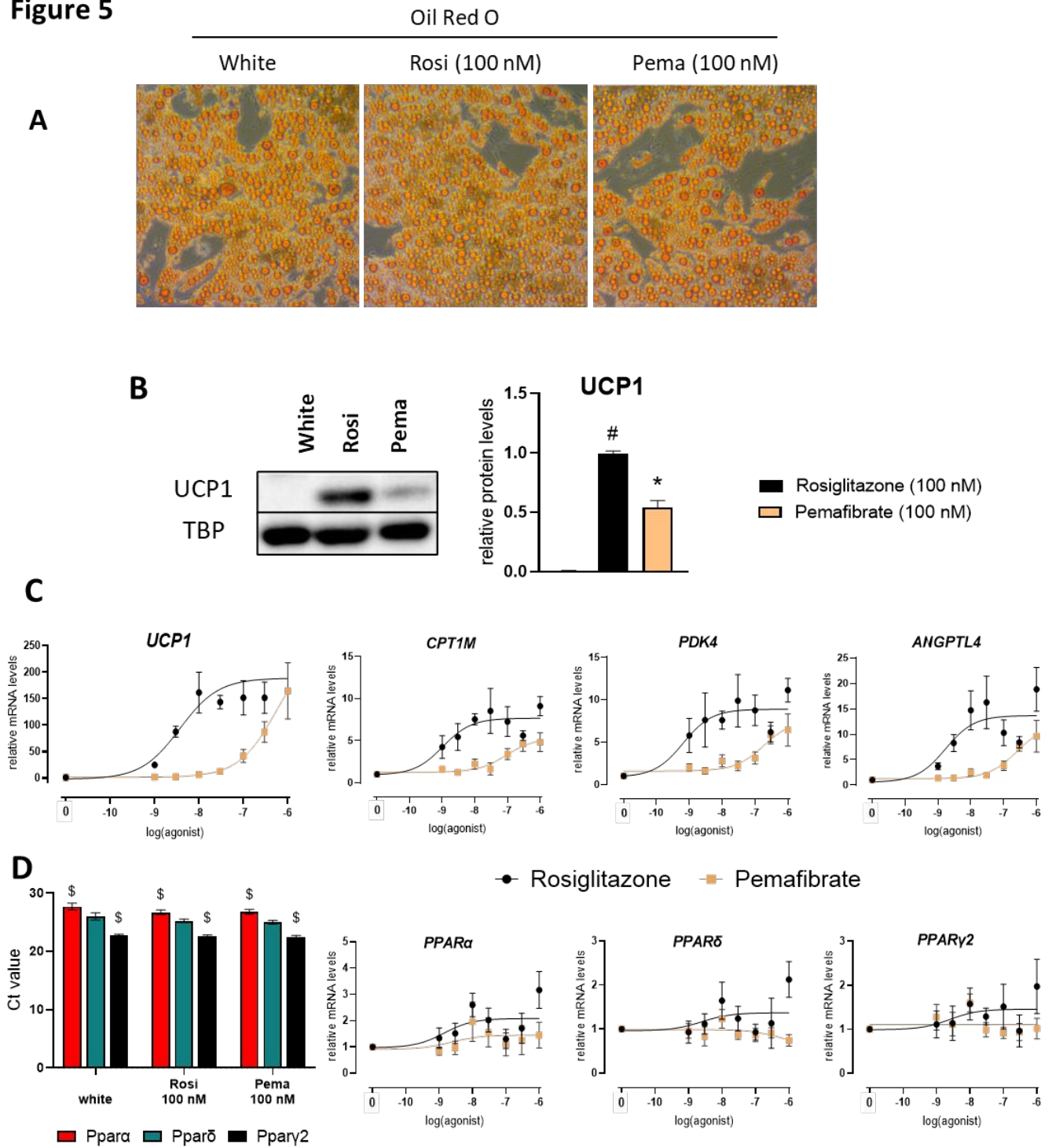
**Figure 3. Effects of PPARα silencing is consistent in various models of beige**

SVF cells derived from human subcutaneous tissue (A) or hMADS cells (B) were induced to differentiate, transfected at D10 and then induced to convert into beige adipocytes at day14 for the last 4 days in the presence of 100 nM rosiglitazone (A) or 3 μM cPGI2 (B). mRNA levels of thermogenic and adipogenic markers were analyzed. Histograms display mean ± SEM of 3 independent experiments. Statistics by two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test,  $p < 0.05$  considered as significant: #, vs white siCtrl; \*, vs beige siCtrl, \$, vs cPGI2 siCtrl.





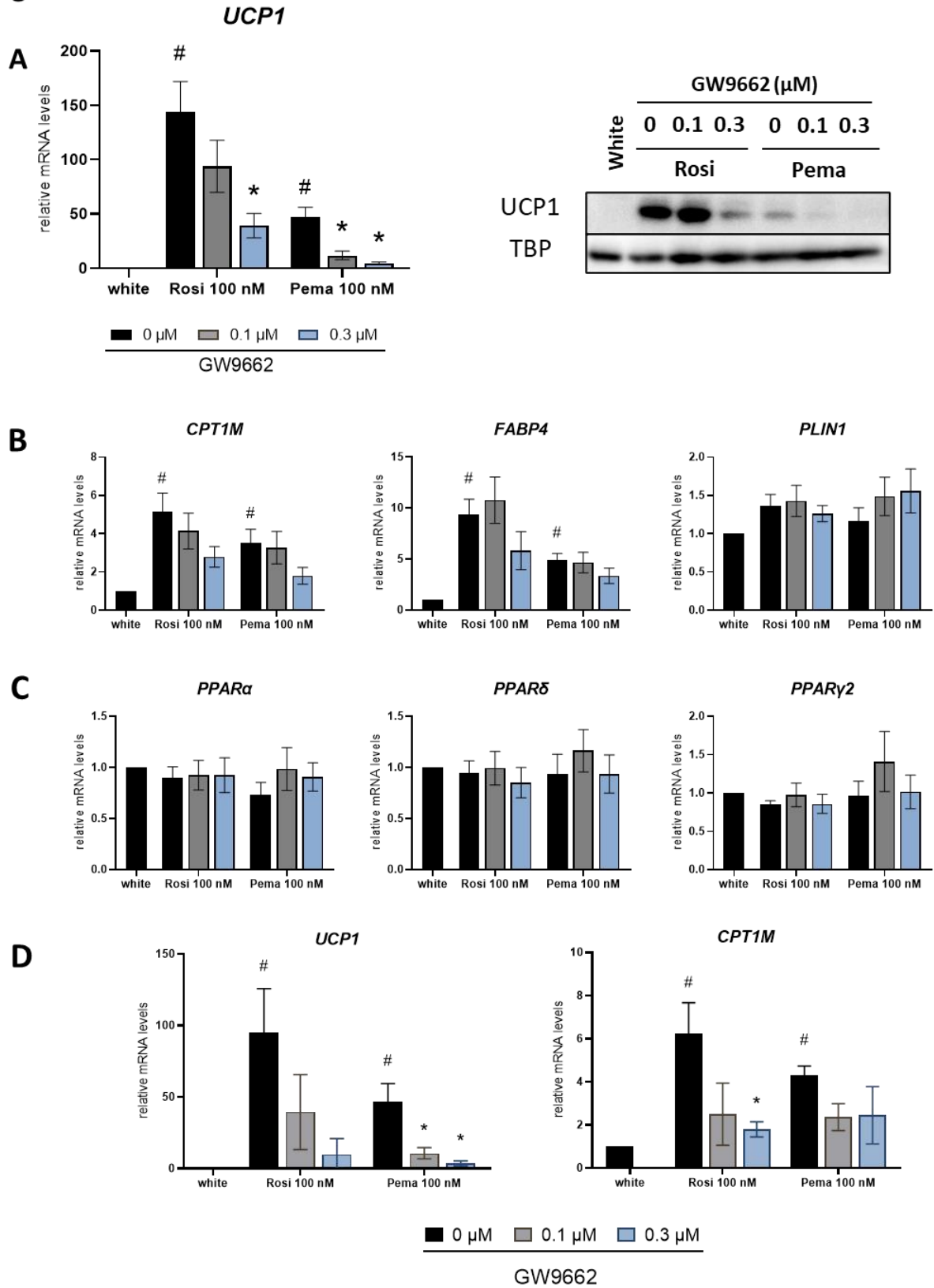
**Figure 5**



**Figure 5. Pemafibrate induces UCP1 expression in human white adipocytes.**

hMADS cells were induced to differentiate into adipocyte. At D14, hMADS adipocytes, considered as white adipocytes were converted for four days into thermogenic adipocytes using rosiglitazone or pemafibrate, specific agonists of PPAR $\gamma$  and PPAR $\alpha$ , respectively. (A) Oil red O staining. (B) UCP1 protein expression. (C) *UCP1*, *CPT1M*, *PDK4* and *ANGPTL4* mRNA levels were measured upon treatment with various amounts of rosiglitazone or pemafibrate. (D) *PPARs* mRNA levels either as Ct values or relative expression. Histograms display mean  $\pm$  SEM of 5 (B), 4-8 (C, D) independent experiments. Statistics by one-way ANOVA with Sidak multiple comparisons test,  $p < 0.05$  considered as significant: #, vs white siCtrl; \*, Pemafibrate vs Rosiglitazone, \$, vs Ppar $\delta$ .

**Figure 6**

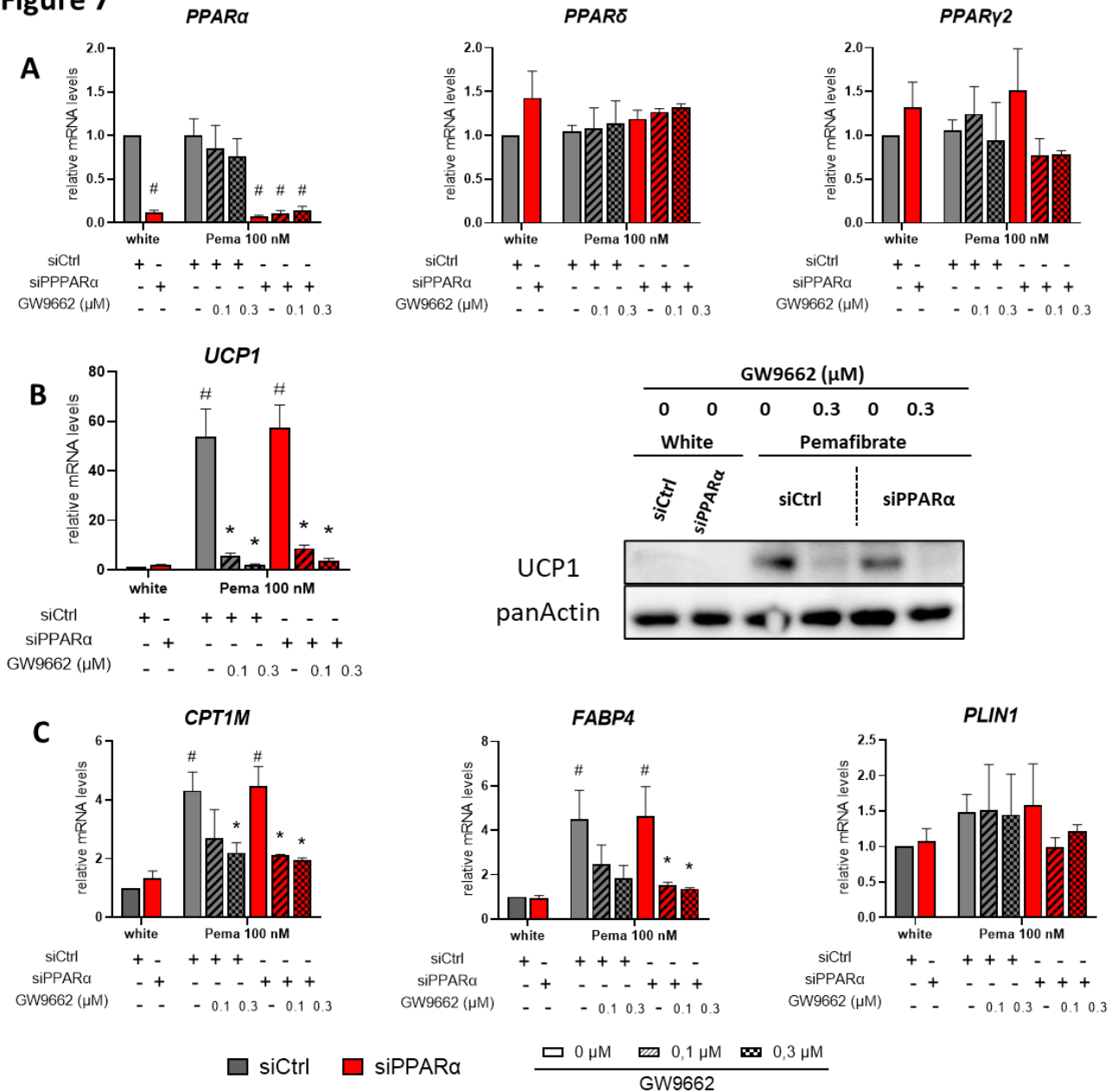


**Figure 6. PPAR $\gamma$  antagonist GW9662 interferes with PPAR $\alpha$  activation by pemafibrate.**

hMADS cells were induced to differentiate into adipocyte, and at D14 cells were induced or not to convert into thermogenic adipocytes using 100 nM rosiglitazone or 100 nM pemafibrate in the absence or the presence of GW9662, a PPAR $\gamma$  antagonist. (A) *UCPI* mRNA and protein levels were measured. (B) *CPT1M*, *FABP4*, *PLIN1* and (C) *PPARs*, mRNA levels were measured. (D) *UCPI* and *CPT1M* mRNA expression in hSVF cells differentiated into adipocytes and treated with either rosiglitazone or pemafibrate in the absence or the presence of GW9662. Histograms display mean  $\pm$  SEM of 7 independent (A, B, C) or 3 (D) experiments.

Statistics by one-way ANOVA with Sidak multiple comparisons test,  $p < 0.05$  considered as significant: #, vs white; \*, vs untreated.

**Figure 7**



**Figure 7. Pema-fibrate-dependent UCP1 induction is likely due to PPAR $\gamma$  activation.**

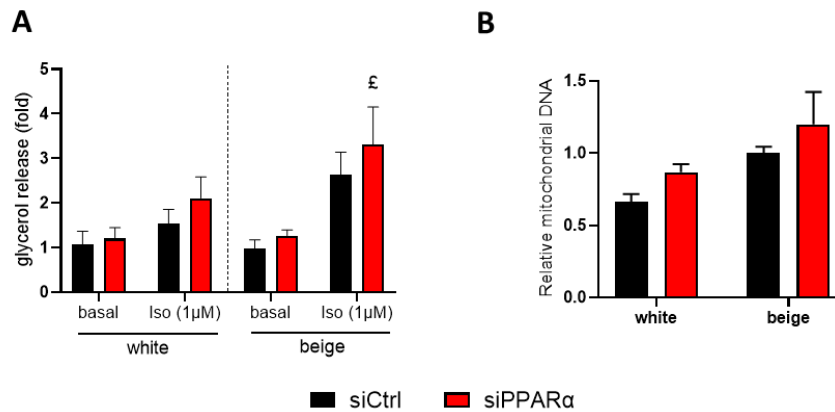
hMADS cells were induced to differentiate into adipocyte, were transfected with siRNA (siCtrl or siPPAR $\alpha$ ) at D10 and at D14 cells were treated or not for 4 days with 100 nM pema-fibrate in the absence or the presence of GW9662, a PPAR $\gamma$  antagonist. (A) PPARs mRNA levels were measured, (B) UCP1 mRNA and protein, (C) *CPT1M*, *FABP4* and *PLIN1* mRNA levels were measured. Histograms display mean  $\pm$  SEM of 3 independent experiments. Statistics by one-way ANOVA with Sidak multiple comparisons test,  $p < 0.05$  considered as significant: #, vs white siCtrl; \*, vs untreated.

## Supplementary material

**Supplemental Table 1. List of primers used in reverse transcription-quantitative PCR**

<b>Gene names</b>	<b>Forward primer</b>	<b>Reverse primer</b>
<i>UCP1</i>	GTGTGCCCAACTGTGCAATG	CCAGGATCCAAGTCGCAAGA
<i>CPT1M</i>	GAGCAGCACCCCAATCAC	AACTCCATAGCCATCATCTGCT
<i>CIDEA</i>	GCGAGAGTCACCTTCGACTTG	CGTTAAGGCAGCCGATGAA
<i>GK</i>	TAATACAGGCCATAAGTGTGTATTTTCTG	ACTGGTTTGTCTCTGCCAAGTTT
<i>FABP4</i>	TGTGCAGAAATGGGATGGAAA	CAACGTCCCTTGGCTTATGCT
<i>PPAR<math>\alpha</math></i>	GGCGAACGATTCGACTCAAG	TCCAAAACGAATCGCGTTGT
<i>PPAR<math>\gamma</math>2</i>	CAAACCCCTATTCCATGCTGTT	ATCAGTGAAGGAATCGCTTTCTG
<i>PPAR<math>\delta</math></i>	CCCTTTGTGATCCACGACAT	TTCACCAACTGCTTCCACAC
<i>PLIN1</i>	ACCCCCCTGAAAAGATTGCTT	GATGGGAACGCTGATGCTGTT
<i>NLRC5</i>	CTCCTCACCTCCAGCTTCAC	GTTATTCCAGAGGCGGATGA
<i>PDK4</i>	TGGCAAGCCGTAACCAAAAC	ATGGATAATTCCCGGAATGCT
<i>ANGPTL4</i>	CCACTTGGGACCAGGATCAC	GGATGGAGCGGAAGTACTGG
<i>36B4</i>	TGCATCAGTACCCATTCTATCAT	AGGCAGATGGATCAGCCAAGA

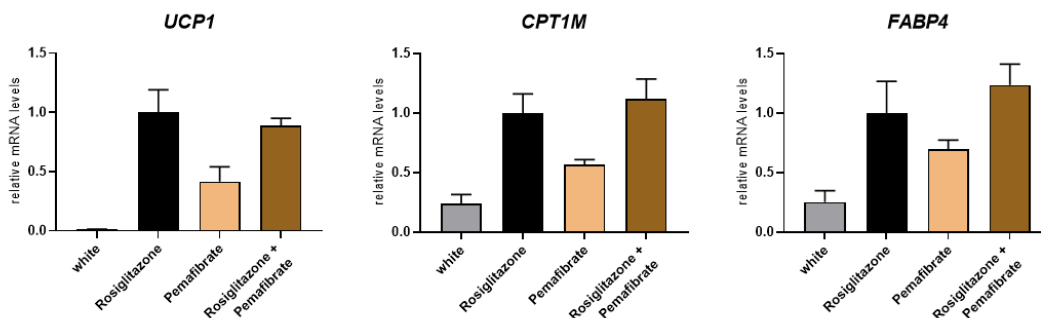
## Supplementary Figure 1



### Supplementary Figure 1. *PPAR $\alpha$* mRNA silencing slightly enhances functions associated to thermogenesis in hMADS beige adipocytes.

hMADS cells were induced to differentiate into adipocyte, then transfected with siRNA (black bars, siCtrl and red bars, siPPAR $\alpha$ ) at D10. At D14, cells were induced or not to convert into beige adipocytes using 100 nM rosiglitazone. (A) Basal or Isoproterenol-induced glycerol release was measured 90 min after vehicle or Isoproterenol (1  $\mu$ M) treatment at D18. (B) Relative mitochondrial content was measured at D18. Histograms display mean  $\pm$  SEM of 3 (A) or 2 (B) independent experiments. Statistical analysis: two-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test,  $p < 0.05$  considered as significant: £, vs basal beige siCtrl.

## Supplementary Figure 2

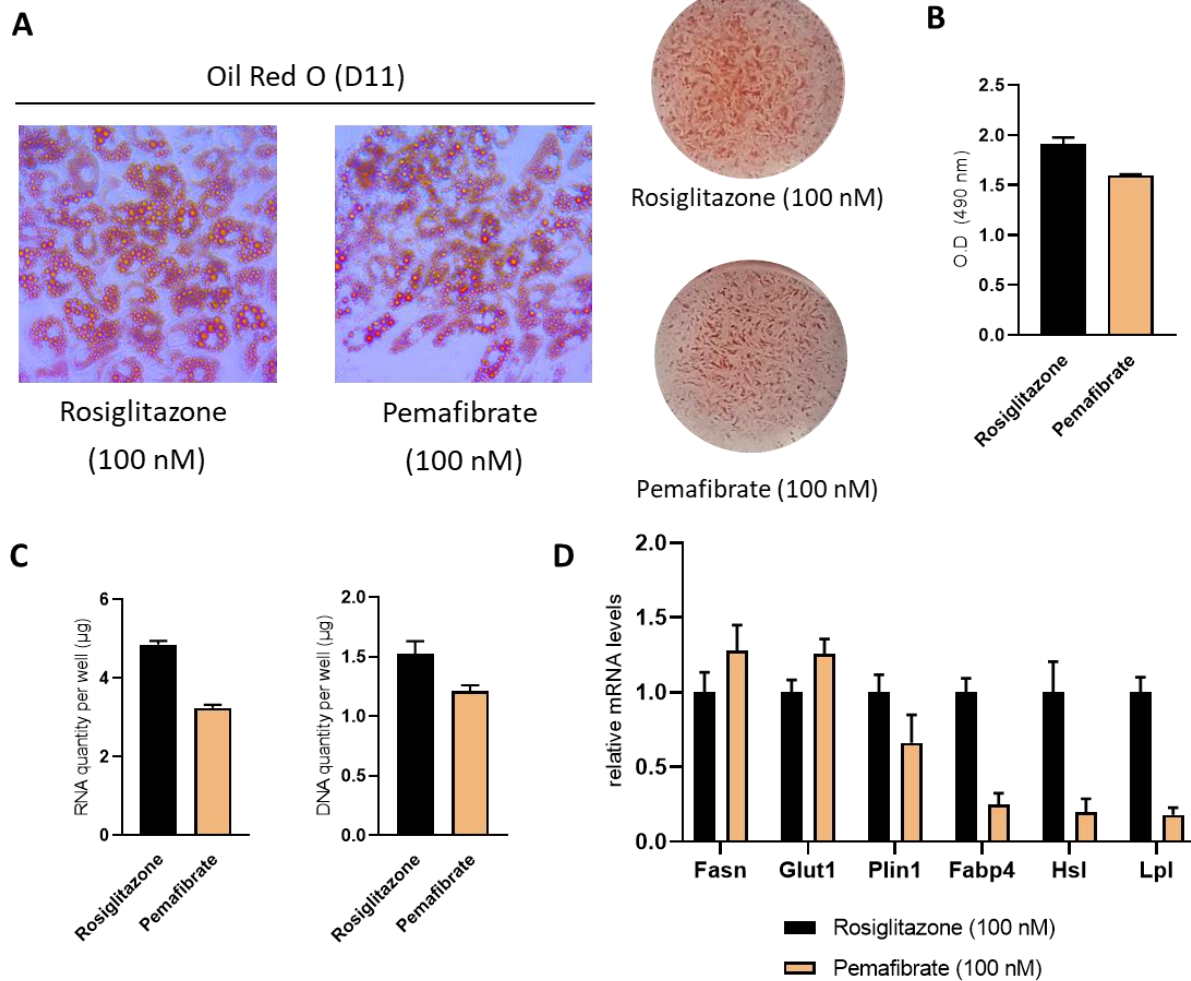


### Supplementary Figure 2. Simultaneous treatment with rosiglitazone and pemaflibrate does not show additive or synergistic effects for adipocyte beiging.

hMADS cells were induced to differentiate into adipocytes. At D14, hMADS adipocytes, considered as white adipocytes were converted for four days into thermogenic adipocytes using rosiglitazone, pemaflibrate or both rosiglitazone and pemaflibrate at 100 nM. *UCP1*, *CPT1M* and *FABP4* mRNA levels were measured.



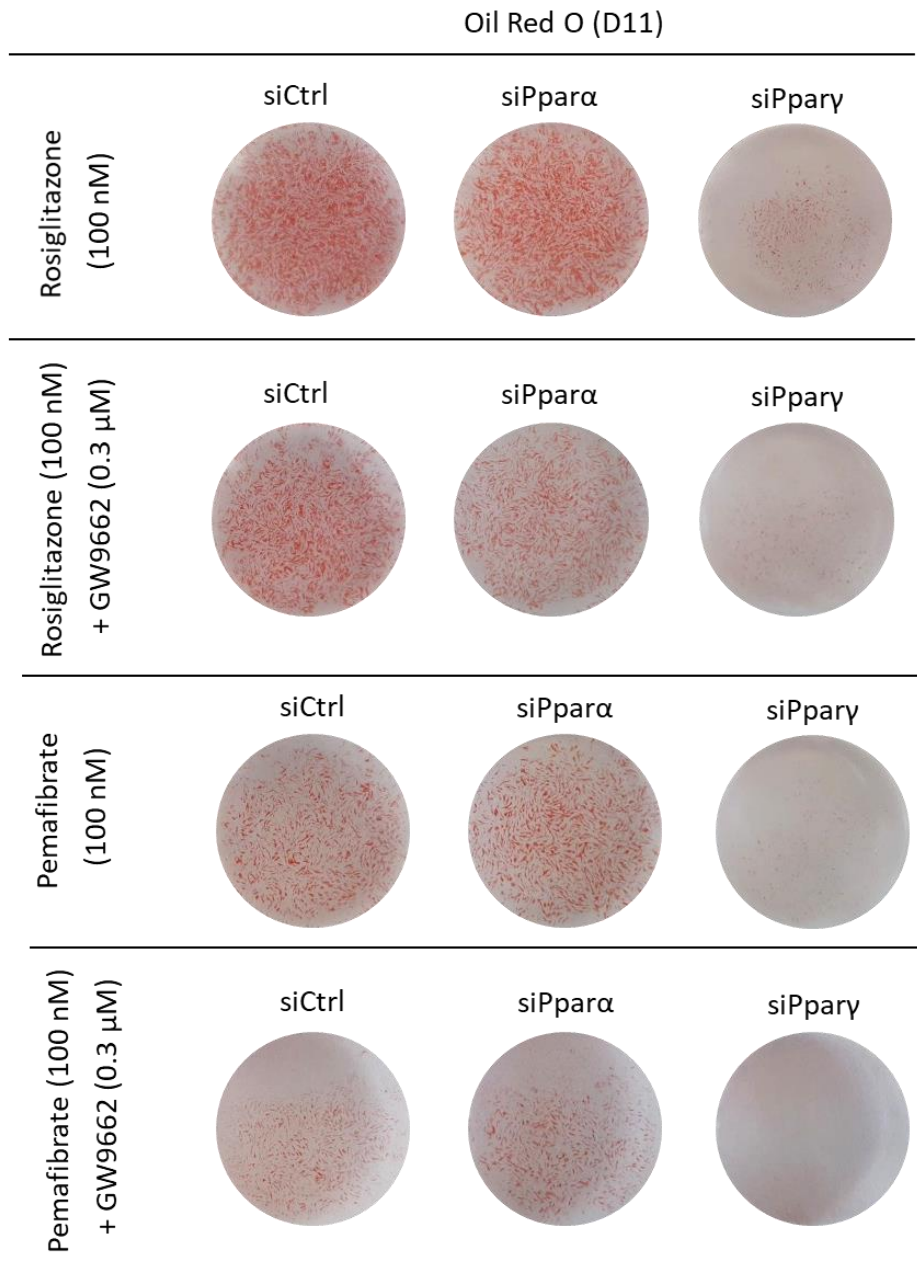
### Supplementary Figure 3



### Supplementary Figure 3. Pemaifibrate induces adipogenesis in hMADS cells.

hMADS cells were induced to differentiate into adipocytes using 100 nM of rosiglitazone or pemaifibrate between day 2 and day 9. At D11, hMADS adipocytes were analyzed. (A) Oil red O staining. (B) Corresponding quantification of Oil Red O staining. (C) RNA and DNA quantity by well. (D) *FASN*, *GLUT1*, *PLIN1*, *FABP4*, *HSL* and *LPL* mRNA levels were measured.

## Supplementary Figure 4



### Supplementary Figure 4. Pemafibrate-dependent adipogenesis is mediated by PPAR $\gamma$ activation.

hMADS cells were transfected with siCtrl or siRNA against PPAR $\gamma$  or PPAR $\alpha$ , then induced to differentiate into adipocytes using 100 nM of rosiglitazone or pemafibrate between day 2 and day 9, in the presence or absence of 300 nM of PPAR $\gamma$  antagonist (GW9662). At D11, hMADS adipocytes were analyzed. (A) Oil red O staining. (B) Corresponding quantification of Oil Red O staining.

## Discussion de l'article in vitro

Au vu de l'ampleur de la pandémie d'obésité, le besoin de nouvelles stratégies thérapeutiques reste important. Les PPARs, en tant que facteurs de transcription impliqués dans le métabolisme glucido-lipidique, sont des cibles thérapeutiques de choix. Ils sont en effet activés par des ligands lipidiques mal connus ce qui a poussé le développement de ligands synthétiques des PPARs. Certains ont même été utilisés avant de connaître leur cible. Par exemple, les fibrates sont utilisés comme hypolipidémiants depuis les années 60 alors que leur cible physiologique, PPAR $\alpha$ , n'a été clonée que dans les années 90.

Les Thiazolidinediones sont des ligands synthétiques de PPAR $\gamma$ , utilisés dans le traitement du DT2. PPAR $\gamma$  étant aussi essentiel à la formation des adipocytes et à l'activation d'adipocytes thermogéniques, les thiazolidinediones comme la rosiglitazone induisent également l'expression de marqueurs thermogéniques comme UCP1. Cependant, des effets indésirables, notamment au niveau cardiaque, ont freiné leur utilisation clinique. Par ailleurs, les thiazolidinediones peuvent induire une prise de poids et augmenter le risque de fractures en raison d'une suractivation de PPAR $\gamma$  dans les cellules stromales de la moelle osseuse favorisant la formation d'adipocytes au détriment d'ostéoblastes.

Certains agonistes synthétiques de PPAR $\alpha$  comme le clofibrate ou le fénofibrate sont incapables d'induire l'expression de marqueurs thermogéniques dans les adipocytes hMADS. Un autre agoniste de PPAR $\alpha$ , le GW7647, permet cette transdifférenciation à des doses plus importantes que la rosiglitazone. Cependant, le fait que le GW7647 favorise également la différenciation adipocytaire alors même que PPAR $\alpha$  n'est pas nécessaire à cette différenciation laisse penser que le GW7647 pourrait aussi activer PPAR $\gamma$ . Récemment, le pémafibrate est apparu comme étant l'agoniste synthétique le plus spécifique de PPAR $\alpha$  avec un KD de 7 nM. Dans notre modèle d'adipocyte humain, le pémafibrate ne semble pas favoriser la différenciation adipocytaire ou l'accumulation de TG. Le pémafibrate est, en revanche, capable d'induire l'expression de marqueurs thermogéniques comme UCP1 ou CPT1M, sans pour autant atteindre des niveaux comparables à ceux obtenus par l'activation de PPAR $\gamma$  grâce à la rosiglitazone. Ces augmentations sont retrouvées au niveau de l'ARNm et protéique. Ainsi, le pémafibrate pourrait être utilisé pour favoriser la conversion d'adipocytes blancs en adipocytes beiges. En revanche, il faudrait d'abord vérifier que ces changements d'expressions géniques ont aussi des conséquences au niveau fonctionnel.

Cependant, nous avons aussi montré que les effets du pémafibrate sur les marqueurs thermogéniques étaient inhibés en présence d'un antagoniste spécifique de PPAR $\gamma$ . De plus, l'induction d'UCP1 par le pémafibrate est conservée même lorsque l'expression de PPAR $\alpha$  est inhibée par des petits ARNs interférents. Ainsi, dans un contexte adipocytaire où les trois isotopes des PPARs sont exprimés, le pémafibrate semble être un agoniste plus spécifique de PPAR $\gamma$ . Pour vérifier cette hypothèse, nous avons essayé d'inhiber l'expression de PPAR $\gamma$  au lieu de PPAR $\alpha$  dans les adipocytes hMADS blancs puis de les traiter au pémafibrate. En transfectant les adipocytes hMADS avec des siRNA dirigés contre PPAR $\gamma$  au jour 10 de notre protocole, l'inhibition de l'expression de PPAR $\gamma$  était très faible au jour 18 ce qui nous a empêché de confirmer notre hypothèse d'un effet du pémafibrate médié par PPAR $\gamma$ .

Il existe plusieurs possibilités pour expliquer cette très faible efficacité de transfection. Les siRNA pourraient être mis en cause. Cependant, ils sont composés de plusieurs séquences ciblant les différents transcrits de PPAR $\gamma$ . Par ailleurs, la transfection de ces siRNAs dans les cellules hMADS non différenciées, avant la transition vers un milieu adipogénique, empêche complètement la différenciation adipocytaire. En revanche, la transfection des cellules hMADS non-différenciées avec des siRNAs dirigés contre PPAR $\alpha$  ne perturbe pas la différenciation adipocytaire. Ces résultats confirment encore l'importance de PPAR $\gamma$ . Ils écartent aussi de fait un éventuel défaut de ces siRNAs. La très faible inhibition de l'expression de PPAR $\gamma$  en fin de protocole de différenciation pourrait venir du fait que, en fin de différenciation CEBP/ $\alpha$  permet de maintenir haut les niveaux de PPAR $\gamma$  (Rosen et al., 2002). Nous avons donc par la suite essayé de trouver la meilleure période de transfusions en fonction des cinétiques d'expressions de PPAR $\gamma$  et de CEBP/ $\alpha$ , permettant de maintenir un phénotype adipocytaire tout en inhibant l'expression de PPAR $\gamma$ . Cette mise au point ; en cours de réalisation, pourrait réellement être une plus-value pour affiner la caractérisation des effets du pémafibrate dans un contexte adipocytaire. Par ailleurs, j'ai également testé l'effet du pémafibrate sur l'adipogenèse, une fonction dépendante de PPAR $\gamma$ . Lorsque le pémafibrate est utilisé à la place de la rosiglitazone, les cellules hMADS sont capables de se différencier en adipocytes, suggérant encore un effet du pémafibrate médié par PPAR $\gamma$ . Notons cependant que l'adipogenèse induite semble moins importante que celle induite par la rosiglitazone. L'effet moins marqué du pémafibrate par rapport à la rosiglitazone sur l'induction de l'adipogenèse et du brunissement des adipocytes hMADS semble indiquer que le pémafibrate est un agoniste de PPAR $\gamma$  moins puissant que la rosiglitazone. Pour confirmer

cette hypothèse, j'ai traité au pémafibrate entre les jours 2 et 9 es cellules hMADS préalablement transfectées avec des siRNAs dirigés contre PPAR $\gamma$  ou PPAR $\alpha$ . Des cellules hMADS transfectées avec les mêmes siRNAs mais traitées avec la rosiglitazone ont été utilisées comme contrôle. L'inhibition de l'expression de PPAR $\gamma$  empêche l'adipogenèse induite par la rosiglitazone mais aussi celle induite par le pémafibrate. Aussi, la formation d'adipocyte par le pémafibrate n'est pas affectée par l'inhibition de l'expression de PPAR $\alpha$ . Ces données confirment ainsi que, dans un contexte adipocytaire, le pémafibrate agit en activant PPAR $\gamma$ .

Le pémafibrate, pourtant développé comme agoniste spécifique de PPAR $\alpha$ , semble avoir des effets directs sur l'adipocyte en activant PPAR $\gamma$ . Nos données ne sont pas incompatibles avec la littérature. *In vivo* chez la souris, le pémafibrate induit le programme thermogénique dans le TA blanc. *In vitro* dans divers modèles d'adipocytes humains (hMADS et adipocytes différenciés issus de cellules de la FSV, nous avons montré que le pémafibrate induisait l'expression de plusieurs marqueurs thermogéniques. Cependant, dans plusieurs études *in vivo* chez la souris, les effets bénéfiques du pémafibrate sont associés à une augmentation des niveaux circulants de FGF21 ou bien perdus chez la souris délétée pour le FGF21. Le pémafibrate apparait donc non pas comme un agoniste spécifique de PPAR $\alpha$  mais un double-agoniste de PPAR $\alpha$  et PPAR $\gamma$ . Cette notion de doubles activateurs a déjà été envisagé en raison des effets indésirables des agonistes spécifiques de PPAR $\gamma$ . Cependant, le développement et l'utilisation de plusieurs de ces doubles agonistes ont dû être arrêtés. La pharmacovigilance concernant le pémafibrate indique un bon profil d'innocuité. Cette molécule étant utilisée en clinique au Japon depuis 2017. Il serait maintenant intéressant d'étudier si les effets hypolipidémiant du pémafibrate sont uniquement liés à l'activation hépatique de PPAR $\alpha$ . En d'autres termes, le pémafibrate pourrait-il augmenter la capacité thermogénique du TA chez l'homme ? L'analyse de PET-scans de patients traités avec le pémafibrate pourrait donner les premiers éléments de réponse. Par ailleurs, au vu de l'activation de PPAR $\gamma$  par le pémafibrate, on peut se demander si cette molécule permet d'améliorer la sensibilité à l'insuline ? Bien que prescrit pour la prise en charge de l'hyperlipidémie, certaines études ont montré que le pémafibrate améliorait certains paramètres liés à l'homéostasie glucidique comme les niveaux d'hémoglobines glyquée, la glycémie à jeûn ou l'indice HOMA-IR (Ishibashi et al., 2017; Yokote et al., 2021). L'amélioration de ces paramètres est-elle uniquement une conséquence de l'amélioration

du profil lipidique due à l'activation de PPAR $\alpha$  au niveau hépatique, ou bien une conséquence de l'activation simultanée de PPAR $\alpha$  dans le foie et de PPAR $\gamma$  dans le TA?

*In vivo* chez la souris, l'effet du pémafibrate vis-à-vis de la thermogénèse semble donc lié à l'activation directe de PPAR $\gamma$  sur l'adipocyte couplé à un effet indirect via l'activation hépatique de PPAR $\alpha$  et la sécrétion de FGF21. Il serait intéressant de simuler cette double activation *in vitro* sur les cellules hMADS en cotraitant avec le pémafibrate et le FGF21. Ces cellules expriment d'ailleurs le FGFR1 et le co-récepteur  $\beta$ -Klotho. Cependant, des travaux non publiés du laboratoire ont révélé que le FGF21 était incapable d'induire l'expression d'Ucp1 dans les adipocytes hMADS ou bien de potentialiser l'effet de la rosiglitazone.

Dans cet article explorant le rôle de PPAR $\alpha$  dans la conversion d'adipocytes humains vers un phénotype thermogénique, nous avons également montré que l'inhibition de l'expression de PPAR $\alpha$  augmentait la capacité thermogénique induite par l'activation de PPAR $\gamma$ . En effet, le fait de transfecter les adipocytes hMADS à jour 10, avec des siRNAs dirigés contre PPAR $\alpha$ , augmente l'induction d'UCP1 médiée par la rosiglitazone. Cette potentialisation des effets de la rosiglitazone est inhibée par un antagoniste de PPAR $\gamma$ , confirmant l'implication de ce dernier. En revanche, l'expression des autres marqueurs thermogéniques n'est pas modifiée par l'inhibition de l'expression de PPAR $\alpha$ . De plus, l'effet sur UCP1 est toujours retrouvé au jour 18 après avoir inhibé l'expression de PPAR $\alpha$  avant le début de la différenciation adipocytaire. La surinduction de l'expression d'UCP1 est aussi retrouvée avec un autre inducteur du brunissement, la carbaprostacycline qui est un analogue stable de prostacycline 2 (PGI<sub>2</sub>). Cette prostaglandine induit le brunissement des adipocytes hMADS via une voie directe par son récepteur IP et une voie indirecte activant PPAR $\gamma$  (Ghandour et al., 2016). Ainsi, le fait d'inhiber l'expression de PPAR $\alpha$  semble potentialiser le brunissement médié par PPAR $\gamma$ . Nos résultats soulignent encore le rôle primordial de PPAR $\gamma$  dans l'adipogenèse, et la transdifférenciation d'adipocytes blancs en adipocytes thermogéniques. De plus, dans certains cas, PPAR $\alpha$  pourrait même être un frein au brunissement. Le séquençage ARN n'a pas permis l'identification de gènes candidats pour expliquer l'augmentation d'UCP1. D'autres types de séquençages prenant en compte les interactions ADN/protéines pourraient être plus pertinents, notamment pour étudier le complexe de régulation transcriptionnel au niveau du promoteur d'UCP1. De telles analyses sont nécessaires pour une meilleure compréhension des mécanismes impliqués.

# Résultats in vivo chez la souris

Article 2

## Deletion of PPAR $\alpha$ in mouse brown adipocytes increases De Novo Lipogenesis in brown adipose tissue

Pierre-Louis Batrow<sup>1</sup>, Sylvie Caspar-Bauguil<sup>2</sup>, Nadine Gautier<sup>1</sup>, Nathalie Rochet<sup>1</sup>, Anne-Sophie Rousseau<sup>1</sup>, Marielle Maret<sup>3</sup>, Samah Rekima<sup>1</sup>, Emmanuel van Obberghen<sup>4</sup>, Christian H Roux<sup>1,5</sup>, Hervé Guillou<sup>6</sup>, Catherine Postic<sup>7</sup>, Christian Wolfrum<sup>8</sup>, Dominique Langin<sup>2,9,10</sup>, Ez-Zoubir Amri<sup>1</sup> and Isabelle Mothe-Satney<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, Adipocible Research Study Group, iBV, Nice, France

<sup>2</sup>Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases, I2MC, University of Toulouse, Inserm, Toulouse III University - Paul Sabatier (UPS), Toulouse, France

<sup>3</sup> Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, IRCAN, Nice, France

<sup>4</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Laboratoire de Physiomédecine Moléculaire (LP2M), Laboratories of Excellence Ion Channel Science and Therapeutics, Nice, France

<sup>5</sup> Rheumatology Department, Hospital Pasteur 2 CHU, Adipocible Research Study Group, 06000 Nice, France

<sup>6</sup>Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

<sup>7</sup>Université Paris Cité, Institut Cochin, CNRS, Inserm, Paris, France.

<sup>8</sup>Laboratory of Translational Nutrition Biology, Institute of Food, Nutrition and Health, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland

<sup>9</sup>Department of Medical Biochemistry, Toulouse University Hospitals

<sup>10</sup>Institut Universitaire de France (IUF), Paris, France.

\*Corresponding author: iBV, Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur, CNRS UMR 7277, Inserm U1091, Tour Pasteur; Faculté de Médecine; 28, avenue de Valombrose, 06107 Nice, France. E-mail [Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr](mailto:Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr);

## Introduction de l'article in vivo

Au sein du TA brun, PPAR $\alpha$  n'est pas nécessaire à la formation et à l'activation d'adipocytes thermogéniques chez la souris nourrie en régime standard et maintenue à 22°C (Lasar et al., 2018). Une certaine redondance avec PPAR $\gamma$  pourrait expliquer l'apparente faible importance de PPAR $\alpha$  dans la thermogénèse du TA brun. Certains gènes sont, en effet, des cibles communes de ces deux isotypes. Cependant, au sein de tissu, l'expression de PPAR $\alpha$  est importante. Ainsi, PPAR $\alpha$  pourrait jouer un rôle important dans le TA brun, au-delà de la thermogénèse. Cette hypothèse peut être intéressante connaissant le rôle de PPAR $\alpha$  dans d'autres tissus, notamment le foie. PPAR $\alpha$  hépatique peut en effet être considéré comme un senseur énergétique et lipidique. Ainsi, des souris délétées spécifiquement pour PPAR $\alpha$  dans le TA brun ont été maintenues à thermoneutralité en régime riche en graisse pendant 20 semaines, puis traitées une semaine au CL316,243, un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques. Cette double stimulation (nutritionnelle et  $\beta$ 3-adrénergique) n'a pas été étudiée dans ce modèle de délétion génique. Or, elle permet d'illustrer le fait que le TA brun est un tissu extrêmement plastique. Le régime riche en graisse induit une accumulation de lipides dans le TA brun, associé à son blanchiment. Pour limiter encore la thermogénèse basale, les souris ont été maintenues à thermoneutralité. Au contraire, le traitement avec un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergique permet de stimuler la thermogénèse. Quelles sont donc les conséquences de l'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun dans ces conditions particulières ?



## **Deletion of PPAR $\alpha$ in mouse brown adipocytes increases De Novo Lipogenesis in brown adipose tissue**

Pierre-Louis Batrow<sup>1</sup>, Sylvie Caspar-Bauguil<sup>2</sup>, Nadine Gautier<sup>1</sup>, Nathalie Rochet<sup>1</sup>, Anne-Sophie Rousseau<sup>1</sup>, Marielle Maret<sup>3</sup>, Samah Rekima<sup>1</sup>, Emmanuel van Obberghen<sup>4</sup>, Christian H Roux<sup>1,5</sup>, Hervé Guillou<sup>6</sup>, Catherine Postic<sup>7</sup>, Christian Wolfrum<sup>8</sup>, Dominique Langin<sup>2,9,10</sup>, Ez-Zoubir Amri<sup>1</sup> and Isabelle Mothe-Satney<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, Adipocible Research Study Group, iBV, Nice, France

<sup>2</sup>Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases, I2MC, University of Toulouse, Inserm, Toulouse III University - Paul Sabatier (UPS), Toulouse, France

<sup>3</sup> Université Côte d'Azur, CNRS, Inserm, IRCAN, Nice, France

<sup>4</sup>Université Côte d'Azur, CNRS, Laboratoire de Physiomédecine Moléculaire (LP2M), Laboratories of Excellence Ion Channel Science and Therapeutics, Nice, France

<sup>5</sup> Rheumatology Department, Hospital Pasteur 2 CHU, Adipocible Research Study Group, 06000 Nice, France

<sup>6</sup>Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

<sup>7</sup>Université Paris Cité, Institut Cochin, CNRS, Inserm, Paris, France.

<sup>8</sup>Laboratory of Translational Nutrition Biology, Institute of Food, Nutrition and Health, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland

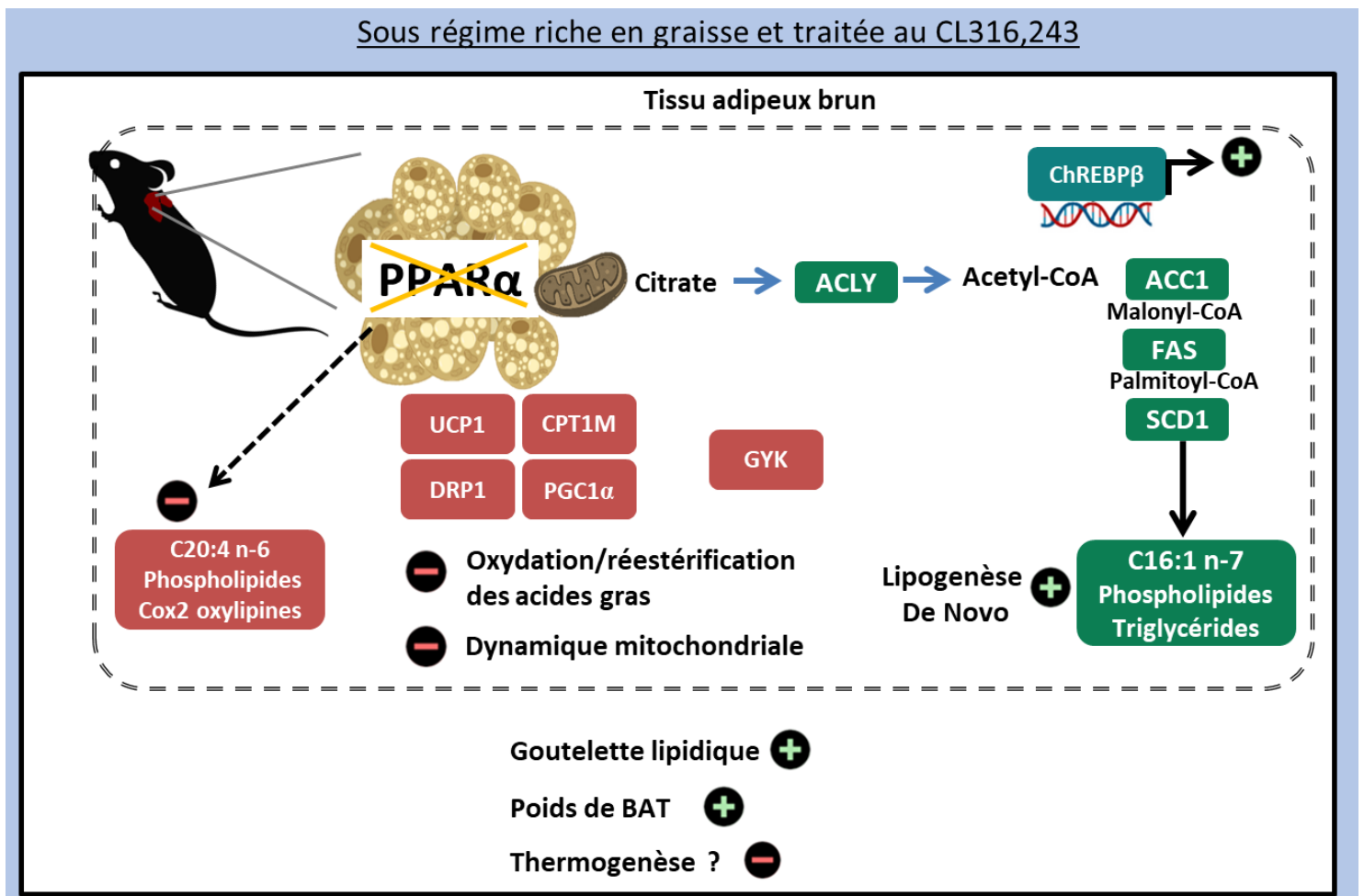
<sup>9</sup>Department of Medical Biochemistry, Toulouse University Hospitals

<sup>10</sup>Institut Universitaire de France (IUF), Paris, France.

\*Corresponding author: iBV, Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur, CNRS UMR 7277, Inserm U1091, Tour Pasteur; Faculté de Médecine; 28, avenue de Valombrose, 06107 Nice, France. E-mail [Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr](mailto:Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr);

## Highlights

- The lack of PPAR $\alpha$  in BAT modestly decreases UCP1 level in BAT of HFD-induced obese female but not in male mice
- The lack of PPAR $\alpha$  in BAT increases lipid droplet size in BAT of HFD-induced obese mice
- The lack of PPAR $\alpha$  in BAT induces BAT De Novo Lipogenesis after  $\beta_3$ -adrenergic stimulation in HFD-induced obese mice
- The lack of PPAR $\alpha$  in BAT alters Phospholipid and Triglyceride profiles after  $\beta_3$ -stimulation in HFD-induced obese mice



Graphical Abstract

## Abstract

Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) are nuclear receptors involved in the control of lipid metabolism. The PPAR $\gamma$  isoform is highly expressed in white (WAT) and brown (BAT) adipose tissue, and its role in adipocyte differentiation and in the thermogenic function of the BAT is well documented. The PPAR $\alpha$  isoform is also robustly expressed in brown adipocytes but its precise role in BAT remains unclear. In this work, we have investigated the role of PPAR $\alpha$  in BAT by using a tamoxifen-inducible BAT specific PPAR $\alpha$  knockout model (PPAR $\alpha$ BATKO mice). Mice were housed at thermoneutrality to minimize BAT basal activation, fed a high-fat diet for 20 weeks and challenged with a  $\beta_3$ -adrenergic agonist (CL316,243) during the last week of the diet. Both male and female mice were studied. Body weight and glucose tolerance tests were similar in control and PPAR $\alpha$ BATKO mice. However, BAT morphology was changed in both male and female PPAR $\alpha$ BATKO mice, with more unilocular and larger lipid droplets compared to control mice, suggesting BAT impaired function. Indeed, when treated with CL316,243, de novo lipogenesis (DNL) was increased, reflected by a marked increase in the expression of ChREBP $\beta$  and the lipogenic enzymes, ACLY, ACC1, FASN and SCD1. This was accompanied by a modification in the lipid profiles found in BAT, especially the composition of phospholipids. We also found a slight impairment in BAT thermogenic capacity, but only in female PPAR $\alpha$ BATKO mice. Taken together, our results reveal a key role of PPAR $\alpha$  in de novo lipogenesis in BAT, and by doing so BAT could affect whole body lipid homeostasis in mice.

## 1. Introduction

Overweight and obesity correspond to different degrees of accumulation of fat that can exert deleterious health effects. Excess body weight initially affects the functioning of adipose tissue, as this organ is specialized in storing energy in the form of lipids for future systemic use. The prevalence of overweight and obesity is increasing worldwide reaching epidemic proportions and is attributed to multiple factors, including changes in life style, increased consumption of calorie rich food and insufficient physical activity <sup>1,2</sup>. Targeting fat cell metabolism to increase energy expenditure may be a promising path to counter obesity. One way to increase energy expenditure is through non-shivering thermogenesis in brown adipose tissue (BAT). PETscan analysis show that healthy adult humans possess active BAT depots <sup>6-8</sup>. Non-shivering thermogenesis is achieved mainly through uncoupling protein 1 (Ucp1), which is highly expressed in BAT <sup>3</sup>. This protein is induced by specific stimuli, such as cold exposure, in BAT but also in WAT giving rise to beige or brite adipocytes <sup>4,5</sup>. Importantly, the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) family has been implicated in adipocyte browning <sup>4,9</sup>. It consists of three different isoforms ( $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ ) involved in fatty acid metabolism <sup>10, Souza-Tavares, 2023 #4700,11</sup>. PPAR $\delta$  is the most ubiquitous of the three isoforms and plays a key role in skeletal muscle. Studies on mice lacking PPAR $\delta$  specifically in BAT showed that PPAR $\delta$  was dispensable for BAT function <sup>12</sup>. PPAR $\gamma$  expression is important in adipose tissue and is critical for both adipogenesis and thermogenesis <sup>12</sup>. Global deletion of PPAR $\gamma$  results in postnatal death at E10. Inactivating mutations in PPAR $\gamma$  cause lipodystrophy and increased risk of type 2 diabetes (T2D) in humans. Synthetic selective PPAR $\gamma$  activators, including thiazolidinediones (TZDs) such as rosiglitazone, have been shown to induce the thermogenic program in mouse WAT <sup>4</sup>. Rosiglitazone also promotes the conversion of human adipocytes from white adipocytes to brite adipocytes *in vitro* <sup>19</sup>. PPAR $\alpha$  is present in tissues with high oxidative capacity, particularly BAT and liver and is considered as a major regulator of hepatic lipid metabolism <sup>13,14</sup>. The role of PPAR $\alpha$  in adipose tissue remains unclear even if several studies have been reported <sup>15,16</sup>. PPAR $\alpha$  regulates SREBP-mediated adipogenesis in WAT. Its expression is induced upon cold exposure in this tissue <sup>15,17</sup> rapidly decreases after removal of thermogenic stimulation such as treatment with rosiglitazone or  $\beta$ 3-adrenergic agonist <sup>18</sup>. Cold exposure induces transient hypothermia in PPAR $\alpha$ -/- mice <sup>15</sup>. However, whole genome expression profiling on the inguinal WAT depot showed no difference between wildtype and PPAR $\alpha$  -/- mice exposed to thermoneutrality or cold for ten days <sup>15</sup>. *In vivo* and *in vitro* studies indicated that dual PPAR $\alpha/\gamma$  activation synergistically favored UCP1-dependent and independent thermogenesis <sup>16,20</sup>. PPAR $\alpha$

activators such as pemafibrate can induce browning of white adipocytes, but to a lesser extent than rosiglitazone<sup>18</sup>. Moreover, effects of pemafibrate were more potent *in vivo* than *in vitro* and were predominantly mediated by increases in FGF21 in the liver<sup>18,21,22</sup>. The importance of PPAR $\alpha$  in BAT therefore remains unclear. In present study, we investigated the specific role of PPAR $\alpha$  in BAT using an *in vivo* knockout model. Mice lacking PPAR $\alpha$  specifically in brown adipocytes were housed at thermoneutrality and fed a high fat diet. Treatment with the  $\beta$ 3-adrenergic agonist CL316,243 revealed that PPAR $\alpha$  regulates BAT thermogenic capacity, mitochondrial dynamics and de novo lipogenesis.

## Results

### **PPAR $\alpha$ BATKO mice: inducible deletion of PPAR $\alpha$ specifically in brown adipose tissue**

To investigate the role of PPAR $\alpha$  in mature brown adipocytes, we generated PPAR $\alpha$ BATKO by crossing PPAR $\alpha$  lox/lox with UCP1-CRE<sup>ERT2</sup> mice<sup>12</sup> (Figure 1A). The resulting mice and control littermates were maintained at thermoneutrality (28-30°C) and were given a high fat diet for 20 weeks. The last 7 days of the experiment, mice of each genotype were divided into 2 groups (Figure 1B). Half of the animals were daily injected with 1 mg/kg of CL316,243, while the other half was injected with vehicle (NaCl). PPAR $\alpha$ BATKO mice displayed, upon tamoxifen treatment, a strong inhibition of Ppar $\alpha$  mRNA levels (Figure 1C) in BAT compared to control mice (up to 97% in female and 83% in male mice), whereas Ppar $\gamma$  and Ppar $\delta$  levels were not affected (Supplementary Figure 1A and 1B).  $\beta$ 3-adrenergic agonist stimulation had no significant effect on Ppar $\alpha$  expression in BAT. Female PPAR $\alpha$ BATKO mice displayed a slight decrease of Ppar $\alpha$  mRNA level in scWAT in NaCl condition (Figure 1D). CL316,243 tended to increase Ppar $\alpha$  expression in both genotypes of male and female mice in scWAT (Figure 1D). The lack of Ppar $\alpha$  expression in BAT did not alter its level in liver of both in female and male mice (Figure 1E). Together our data showed that PPAR $\alpha$ BATKO is an appropriate model to investigate the role of PPAR $\alpha$  specifically in BAT.

### **BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ does not alter glucose tolerance or weight gain in HFD-induced obese mice**

PPAR $\alpha$ BATKO mice displayed a similar body weight compared to control mice during the 20 weeks of HFD (Figure 2A and 2C). The absence of PPAR $\alpha$  in BAT did not alter glucose tolerance neither in female nor in male mice (Figure 2B and 2D). The last week of the experiment consisted for half of the animals in BAT stimulation with daily  $\beta$ 3-adrenergic

agonist injections. In female mice, no difference was observed between the two genotypes for total body weight, fat pads weight of intrascapular BAT or scWAT (Figure 2E). The body weight of PPAR $\alpha$ BATKO male mice treated with vehicle was comparable to that of control mice. However, when treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist, total body weight was significantly higher in male PPAR $\alpha$ BATKO mice (Figure 2G), reaching the weight of mice treated with NaCl. In male mice, CL316,243 treatment significantly reduced BAT weight but only in control mice suggesting the occurrence of an altered response to  $\beta$ 3-adrenergic stimulation in PPAR $\alpha$ BATKO male mice. As observed in female mice, the weight of scWAT was the same between the two genotypes in male mice treated with vehicle or CL316,243. In female mice, total AT volume, estimated by tomography, was significantly reduced by  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment only in control mice (Figure 2F). In male mice, AT volume was slightly reduced by CL316,243 in control mice, while it was not modified in PPAR $\alpha$ BATKO male mice (Figure 2H).

Although the absence of PPAR $\alpha$  in BAT did not modify glucose tolerance or weight in female mice, PPAR $\alpha$ BATKO female mice displayed changes in adipose tissue gene expression (Figure 2I). BAT adiponectin mRNA levels after  $\beta$ 3-adrenergic agonist stimulation were significantly lower in PPAR $\alpha$ BATKO mice compared to control mice, while leptin mRNA levels tended to be higher. In female PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with vehicle, BAT leptin mRNA levels were also significantly higher compared to control mice (Figure 2I). The magnitude of these gene expressions in BAT was in agreement with the tendencies observed for the corresponding adipokine levels in plasma (Figure 2K). In male mice, mRNA levels of adiponectin and leptin as well as corresponding circulating levels were the same in both genotypes (Figure 2J and 2L). Together, these data suggest that Ppar $\alpha$  might be a regulator of the response to  $\beta$ 3-adrenergic agonist in BAT.

### **BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ alters BAT morphology**

To better understand the role of PPAR $\alpha$  in BAT, we performed histological analyses of this tissue. Hematoxylin and eosin staining revealed that PPAR $\alpha$ BATKO mice have more unilocular and larger lipid droplets compared to control mice. These changes were observed both in female (Figure 3A and 3B) and male (Figure 3D and 3E) mice. Morphological changes induced by  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment were still observed, but to a lesser extent, in PPAR $\alpha$ BATKO mice. However, mRNA levels of Cidea, a lipid droplet protein, were the same in both genotypes (Figure 3C and 3F). As a morphological change in adipose tissue is often associated to extracellular matrix remodeling, we stained BAT sections with Picro-

Sirius Red. After  $\beta$ 3-adrenergic agonist stimulation collagen deposition area tended to be larger in PPAR $\alpha$ BATKO mice, especially in female (Figure 3G and 3I). However, mRNAs levels of Col1a1 and Col6a1 were similar in the two genotypes (Figure 3H and 3J). Histological analysis showed that BAT specific deletion of PPAR $\alpha$  altered brown adipocyte morphology, suggesting that BAT function might be hampered due to increased lipid deposition or defective lipolysis.

### **BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ impairs BAT thermogenic capacity and mitochondrial dynamics only in female mice**

As PPAR $\alpha$  activation has been shown to be involved in WAT browning, we investigated the role of PPAR $\alpha$  in BAT thermogenesis. In female mice, the expression of Ucp1 mRNA, the main gene involved in thermogenesis, was similar in BAT of PPAR $\alpha$ BATKO and control female mice treated with vehicle (Figure 4A).  $\beta$ 3-adrenergic agonist stimulation induced Ucp1 expression in both genotypes. However, this induction was slightly reduced in female PPAR $\alpha$ BATKO compared to control mice (Figure 4A). This reduction in CL-induced Ucp1 level was also observed in female mice fed a standard chow diet (Supplementary Figure 2A). The changes in UCP1 mRNA levels shown in Figure 4A were consistent with UCP1 protein levels analyzed by Western-blot (Figure 4B), while no difference was observed using UCP1 IHC staining (Figure 4C). In female mice, the expression of other thermogenesis-related genes was impaired by the absence of PPAR $\alpha$  in BAT. Cpt1m mRNA levels were lower in female PPAR $\alpha$ BATKO mice in both NaCl and CL conditions. Expression levels of Atgl and Lpl were lower in PPAR $\alpha$ BATKO mice compared to control mice, reaching significant differences when mice were treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist. Gyk mRNA levels were the same in the two genotypes (Figure 4D). However, GYK protein levels were reduced in PPAR $\alpha$ BATKO mice and its induction by CL316,243 was blunted in the absence of PPAR $\alpha$  in BAT (Figure 4F). Furthermore, the lack of PPAR $\alpha$  in BAT altered mitochondria-related gene expression. Ppargc1a mRNA levels in BAT were reduced in female PPAR $\alpha$ BATKO mice (Figure 4E), and this decrease was significant in NaCl condition. As PPARGC1A is a major regulator of mitochondrial biogenesis, we analyzed other mitochondrial markers. In PPAR $\alpha$ BATKO mice, Letmd1 tended to be less expressed, as well as less induced by CL treatment (Figure 4E). When PPAR $\alpha$  is absent in BAT, mitochondrial DNA content (calculated as  $2\Delta\text{Ct}$  of Cox1 with Ppia as housekeeping gene) was decreased by  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment (CL condition) compared to control mice (Figure 4E). Western-blot analysis revealed that PPAR $\alpha$  might play a role in mitochondrial dynamics upon  $\beta$ 3-adrenergic agonist

challenge. Indeed, in control mice, the level of DRP1 protein, involved in mitochondrial fission, was markedly increased upon CL treatment, but this effect was absent in PPAR $\alpha$ BATKO mice (Figure 4F). However, OXPHOS protein levels were similar in control and PPAR $\alpha$ BATKO female mice (Figure 4G). In male mice, the absence of PPAR $\alpha$  in BAT did not alter the expression of genes related to thermogenesis or mitochondrial biogenesis (Figure 4H). Together, our findings reveal sex differences concerning the role of PPAR $\alpha$  in BAT thermogenesis and mitochondrial dynamics.

### **BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ increases BAT De Novo Lipogenesis upon $\beta$ 3-adrenergic stimulation by upregulating AKT2**

Next, we investigated whether PPAR $\alpha$  regulated BAT lipogenesis as it has been shown to be altered upon  $\beta$ 3-adrenergic activation. Obesogenic diets induce a reduction of the De Novo Lipogenesis (DNL) both in WAT and BAT<sup>23</sup>. Here, control female and male mice fed a high fat diet showed low expression levels of genes involved in the DNL pathway (Figure 5A and 5F). However, PPAR $\alpha$ BATKO mice displayed a strong induction of ChREBP $\beta$  mRNA levels after  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment. ChREBP $\alpha$  and Srebp1 levels were not modified by the absence of PPAR $\alpha$  in BAT (Supplementary Fig 1C and 1D). DNL genes such as *Acly*, *Acaca*, *Fasn*, *Scd1* were also highly induced in PPAR $\alpha$ BATKO treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist, reaching the same level of induction of those fed a standard chow diet (Fig5, Supplementary Fig 3). However, expression levels of *Acacb* or *Elovl6* were similar in the two genotypes. Western-blot analysis confirmed these inductions for *ACLY*, *ACC* and *SCD1* mRNA at protein level (Figure 5B). The increase in expression of DNL enzymes in the absence of PPAR $\alpha$  in BAT was observed in both female and male mice. Next, we looked at AKT which is a kinase involved in insulin signaling and which is downregulated by *SCD1* inhibition in white adipocytes<sup>24</sup>. Further, AKT2 was found to be a cold-induced-kinase involved in ChREBP-mediated DNL in BAT<sup>23</sup>. Interestingly, we found in PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist increased expression of AKT to be associated to changes in DNL enzymes (Figure 5E).

These changes in expression levels of DNL enzymes were associated with modified lipidomic profiles in BAT of PPAR $\alpha$ BATKO mice. Total fatty acid content in triacylglycerol (TAG) was increased in PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist compared to control mice (Figure 5G). To elucidate the origin of the accumulating fatty acids in PPAR $\alpha$ BATKO mice, we performed fatty acid profiling using gas chromatography. In female mice treated with vehicle, fatty acid profiles in TAG were similar in both genotypes (Supplementary Fig



4A). In contrast, in male mice treated with vehicle, the absence of PPAR $\alpha$  in BAT induced an enrichment in SFA (C16:0 and C18:0) associated to a reduction in MUFA (C18:1 n-9) (Supplementary Fig 4B). The ratio of palmitate (C16:0) to linoleic acid (18:2), or palmitoleic acid (16:1) to (18:2) are markers of the amount of endogenously synthesized versus dietary fatty acids. These lipogenic indexes were increased in BAT TAG of both female and male PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with CL316,243 (Figure 5C and 5H). These observations were in agreement with the increased expression of *Acly*, *Acaca*, *Fasn* and *Scd* in these conditions. However, the fatty acid ratios corresponding to SCD1 activity and ELOVL6 activity were not altered by CL316,243 nor the deletion of PPAR $\alpha$  in female mice (Figure 5D). In male mice, the ratio reflecting the elongation of endogenously synthesized fatty acids by ELOVL6 was decreased in PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with CL316,243, while the SCD1 ratio was decreased in PPAR $\alpha$ BATKO male mice treated with NaCl (Figure 5I). These data illustrate a role for PPAR $\alpha$  in the regulation of DNL for lipid accumulation in TAG after a double challenge, a HFD followed by  $\beta$ 3-adrenergic stimulation.

#### **BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ impairs BAT fatty acid content in phospholipid after exposure to a $\beta$ 3- adrenergic agonist**

As de novo synthesized lipids can be incorporated in phospholipids (PL) they can change their nature. Hence the composition of fatty acids in PL may influence membrane fluidity and thus adipocyte functions, such as insulin signal transduction. Changes in PL can also alter various lipid secretions<sup>25,26</sup>. To further elucidate how the increase in DNL observed in PPAR $\alpha$ BATKO mice impacted on fatty acid content, we performed PL fatty acid profiling using gas chromatography in male and female mice.  $\beta$ 3-adrenergic stimulation increased the amount of total PL in BAT (Figure 6A and 6E). Compared to control mice treated with CL316,243, this quantity decreased in female PPAR $\alpha$ BATKO mice (Figure 6A), but further increased in male PPAR $\alpha$ BATKO mice (Figure 6E). In mice treated with vehicle, fatty acid profiles in PL were similar in both genotypes (Figure 6B and 6F). In PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist, fatty acid profiles in PL were in agreement with increased DNL gene expression. Indeed, relative abundance of C16:0, C16:1 n-7, C18:1 n-9 was increased compared to control mice, while C18:0 molar percentage was decreased (Figure 6B and 6F). In BAT PL of female mice with vehicle, C16:0/C18:2 n-6 ratio was reduced. This lipogenic ratio was not altered in PPAR $\alpha$ BATKO male mice. However, the lipogenic ratio C16:1 n-7/C18:2 n-6 tended to be increased in PPAR $\alpha$ BATKO mice treated with CL316,243 both in male and female animals (Figure 6C and 6G). In mice lacking PPAR $\alpha$  in BAT and

treated with  $\beta$ 3-adrenergic agonist, SCD1 ratio was increased, while ELOVL6 ratio was decreased (Figure 6D and 6H). Relative abundance of arachidonic acid (C20:4 n-6) was also reduced in PPAR $\alpha$ BATKO mice after CL316,243 treatment compared to control mice.

In male mice, we also carried out BAT eicosanoids content quantification as arachidonic acid is the precursor of several oxylipins. PCA analysis revealed that both genotypes clustered together for oxylipin content in mice treated with vehicle (data not shown). The concentrations of oxylipins were increased by  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment (Figure 6J). In PPAR $\alpha$ BATKO, these inductions were significantly alleviated for all arachidonic acid derivatives metabolized by COX (Figure 6I). However, the mRNA levels of *Cox2* were the same for both genotypes (data not shown). To sum up, our data suggest a role for PPAR $\alpha$  in the control of fatty acid content affecting oxylipin secretion.

## Discussion

While the role of PPAR $\alpha$  in the liver is well established,<sup>13,27</sup> its function in BAT remains unclear. Previous studies focused mostly on the role of adipose PPAR $\alpha$  in thermogenesis and fatty acid oxidation. Products from lipolysis can activate PPAR $\alpha$  and PPAR $\delta$  in BAT providing a mechanism for matching oxidative capacity to substrate supply<sup>28</sup>. However, PPAR $\alpha$  is dispensable for WAT browning upon cold exposure, despite transient cold intolerance<sup>15</sup>. The effects of CL316,243 on PPAR $\alpha$  seems to be different from cold exposure, as the  $\beta$ 3-adrenergic agonist does not induce WAT remodeling in PPAR $\alpha$   $-/-$  mice<sup>9,29</sup>. These data were obtained in total knock-out mice fed a standard chow diet. Hepatic PPAR $\alpha$  is required for optimal BAT activation in response to activation of  $\beta$ 3-adrenergic stimulation. Indeed, mice lacking PPAR $\alpha$  only in the liver are cold intolerant and display reduced BAT activation by CL316,243 injection<sup>27</sup>. In the present study, we used a unique combination of metabolic challenges, housing at thermoneutrality and obesogenic diet followed by  $\beta$ 3-adrenergic receptors stimulation. We showed that the absence of PPAR $\alpha$  only in BAT modestly decreased UCP1 levels after  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment in female mice housed at thermoneutrality, both fed a chow diet or a high fat diet. The CL316,243-induced GYK expression was also inhibited in PPAR $\alpha$ BATKO. GYK was previously reported as a target of PPAR $\gamma$  in brown adipocytes, positively correlated with *Ucp1* levels<sup>12</sup>. These data suggest that BAT PPAR $\alpha$  is dispensable for direct UCP1-dependent BAT thermogenesis.

In female mice fed a HFD, the absence of PPAR $\alpha$  in BAT followed by  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment also alters mitochondrial dynamics. Indeed, DRP1 protein, a mitochondrial protein highly expressed in BAT and associated with WAT browning<sup>46</sup>, levels are reduced in BAT of PPAR $\alpha$ BATKO female mice. In adipose tissue upon  $\beta$ -adrenergic stimulation, DRP1 facilitates lipid droplet budding from the ER, and hence, new cytosolic lipid droplet formation. Our data are also consistent with the fact that Adipo-Drp1flx/flx mice exhibit more adipocytes with larger sizes, and form less multilocular structures upon cold exposure<sup>47</sup>. It is generally accepted now that obesity is associated with fibro-inflammation in WAT restricting healthy plasticity of adipose tissue<sup>44</sup>. However, fibrotic remodeling of BAT remains poorly studied<sup>45</sup>. Here, PPAR $\alpha$ BATKO mice exhibit larger lipid droplet in BAT associated with more Picro-Sirius staining suggesting that PPAR $\alpha$ BATKO mice have more fibrosis in BAT which might aggravate adipose dysfunction. DRP1 is also essential for mitochondrial fission. Fission facilitates mitophagy for the recycling of damaged mitochondria. Thus, PPAR $\alpha$ BATKO female mice might have altered mitophagy. However, no difference was observed between the two genotypes for OxPhos complexes. Nevertheless, PPAR $\alpha$ BATKO female mice display lower relative mitochondrial DNA content when treated with CL316,243, compared to control mice, suggesting an impaired mitochondrial biogenesis.

In recent years, there has been a growing interest in BAT lipogenesis. In BAT of mice fed a standard diet, acute CL316,243 injection upregulates TG reesterification but inhibits DNL<sup>35</sup>. DNL is then rapidly induced by chronic activation. DNL genes are among the most upregulated genes by mild cold in BAT. A recent study confirmed that the DNL increase after cold exposure was BAT-specific<sup>36</sup>. The situation is different in mice challenged with a HFD. In the context of obesity, adipose function is dysregulated leading to increased basal lipolysis and a defect in lipid incorporation<sup>37,38</sup>. As a consequence, circulating FFAs and hepatic DNL are increased while lipogenesis is decreased in adipose tissue<sup>39</sup>. Mice maintained on HFD display decreased levels of ChREBP $\beta$ , as well as Acly, Acc, and Fasn in WAT and BAT<sup>23</sup>. When energy intakes are higher than energy expenditure, BAT undergoes a “whitening” process leading to increased lipid deposition. Nutrient availability is high, especially at 30°C, so that DNL is not required to maintain homeostasis. Here, DNL in BAT is also inhibited by HFD in control mice. However, in PPAR $\alpha$ BATKO fed a HFD and treated with CL316,243, DNL is still induced to the same extent as the DNL induced in control mice on standard chow diet upon  $\beta$ 3-adrenergic stimulation. Thus, PPAR $\alpha$  appears to be an energy sensor essential for both fatty acid anabolism and catabolism. PPAR $\alpha$  was previously shown to be involved in

the regulation of lipogenesis as adipocyte-specific deletion of PPAR $\alpha$  increased SREBP1-lipogenesis in WAT<sup>17</sup>. DNL is finely regulated by ChREBP and SREBP-1<sup>30</sup>. In WAT, deletion of target genes (FASN, ACC1 or both enzymes) induces browning of white adipocytes and *Scd1* controls de novo beige fat biogenesis<sup>31,32</sup>. Iizuka et al.<sup>34</sup> demonstrated that Ppara and Chrebp $\beta$  were negatively correlated in liver and BAT in a feedback loop manner during fasting, another metabolic challenge.

There are two characterized isoforms of ChREBP, ChREBP $\alpha$  and ChREBP $\beta$ . Several studies attempted to investigate the role of the two ChREBP transcripts in BAT with unclear outcomes. Using lipogenesis inhibitors and ChREBP KO mice housed at 22 and 30°C, Schlein et al. demonstrated that lipid remodeling and BAT involution are prevented by ChREBP deficiency and pharmacological inhibition of lipogenesis<sup>40</sup>. Study of mice lacking ChREBP specifically in BAT showed that ChREBP is not required for non-shivering thermogenesis by BAT under acute or long-term cold exposure<sup>41</sup>. However, most experiments were carried out on mice fed a standard chow diet. Sanchez-Gurmaches et al. published that AKT2 drives cold-related lipogenesis induced in BAT by stimulating ChREBP activity<sup>23</sup>. They also reported that AKT2 levels and activity were reduced by an obesogenic diet. In our study, AKT2 was upregulated in PPAR $\alpha$ BATKO mice on HFD. PPAR $\alpha$ BATKO mice fed a HFD seem to lack metabolic sensors to maintain lipid homeostasis. As a result, the complete morphology of BAT is changed dramatically. Indeed, in PPAR $\alpha$ BATKO, global response to  $\beta$ 3-adrenergic agonist is alleviated, which results in larger, and with more unilocular adipocytes in BAT. Phenotypes observed in PPAR $\alpha$ BATKO mice are generally speaking quite similar to those obtained in mice overexpressing ChREBP $\beta$  specifically in BAT<sup>42</sup>. These mice display increased DNL, morphological changes in BAT with increased lipid deposition, associated with reduced expression of thermogenic markers and mitochondrial content as well as cold intolerance. It is also worth noting that chronic overexpression of ChREBP $\beta$  in pancreatic  $\beta$ -cells results in apoptosis and diabetes<sup>43</sup>. Thus, fine regulation of ChREBP $\beta$  appears to be essential for homeostasis in several organs, and hence for organismal well-functioning.

Cold exposure or  $\beta$ -adrenergic stimulation change markedly fatty acid content in BAT. Our data are consistent with results obtained in ChREBP KO mice<sup>48</sup>. The global deletion of ChREBP increases expression levels of electron transport system proteins including UCP1 and decreases the size of mitochondria in BAT. ChREBP KO mice display also altered

lipidomic profile with reduced concentration of fatty acids up to about 18 carbon atoms such as myristic acid, palmitic acid, palmitoleate, stearic acid and linoleic acid. BAT levels of cardiolipins were also lower in ChREBP KO mice. Here, the absence of PPAR $\alpha$  in BAT increased the synthesis of FA by FASN in mice fed a HFD and treated with CL316,243. Moreover, expression of SCD1 is also increased while the levels of ELOVL6 remain the same between the two genotypes. As a results, PPAR $\alpha$ BATKO mice display impaired FA profiles in TAG and PL, especially after  $\beta$ 3-adrenergic stimulation. In agreement with increased levels of DNL genes from *Acy* to *Scd1*, relative abundances of palmitoleate in TAG and PL are reduced in PPAR $\alpha$ BATKO mice. Monounsaturated FAs, especially palmitoleate, can down-regulate *Ucp1* expression via attenuation of  $\beta$ AR-cAMP-CREB pathway through increased PDE activity<sup>49</sup>. This regulation was found by studying the role of GYK in browning. Consistently, we found that GK protein levels were decreased in PPAR $\alpha$ BATKO mice.

Stimulations such as cold exposure or  $\beta$ 3-adrenergic agonist also increase the expression and activity of enzymes involved in lipid oxidation. Oxylipins, bioactive lipids, are important signaling molecules in health and disease, implicated in the control of adipogenesis, inflammation or browning of adipose tissue- Some COX metabolites derived from ARA such as prostaglandin E2 (PGE2) and prostacyclin (PGI2) promote the formation of beige adipocytes<sup>50,51</sup>. ARA, precursor of these bioactive lipids, comes from PL. As PPAR $\alpha$ BATKO mice display altered FA profile both in TAG and PL, we quantified some of these molecules. We showed that PPAR $\alpha$ BATKO PL content in BAT was less enriched in ARA, precursors of several eicosanoids. PPAR $\alpha$  is activated by various ligands such as PUFA or eicosanoids. Thus, to cut out PPAR $\alpha$  expression could inhibit the synthesis of its endogenous ligands. In agreement, LC-MS analysis revealed that the content of COX2-mediated-oxylipins was depleted in PPAR $\alpha$ BATKO.

#### Limitations of the study

This study highlighted a sexual dimorphism. Only female PPAR $\alpha$ BATKO mice displayed decreased expression of genes involved in thermogenesis and lipolysis. Our analysis did not reveal an explanation for this sexual dimorphism. Furthermore, we did not measure parameters such as temperature or oxygen consumption to verify whether energy expenditure was affected. ChREBP was first described as a carbohydrates (glucose or fructose) sensor<sup>52</sup>. The diet used in the present study was a HFD with 60% of energy coming from lipids. One can question whether the absence of PPAR $\alpha$  in BAT would have the same consequences with

another nutritional challenge such as a high glucose or high fructose diet. Upregulation of DNL in PPAR $\alpha$ BATKO was only observed after CL316,243. This stimulation allows to exclusively target  $\beta$ 3-adrenergic receptors contrary to cold exposure which induces a broader but more physiological response. We did not investigate the lipogenesis in these conditions.

In conclusion, our study demonstrates an important novel role for PPAR $\alpha$  in BAT lipogenesis. This novel role has been identified because of the unique experimental protocol used in this study. We combined housing at thermoneutrality and a HFD followed by a  $\beta$ 3-adrenergic agonist treatment. PPAR $\alpha$  specifically regulates ChREBP $\beta$ -mediated De Novo Lipogenesis. Hence, PPAR $\alpha$  appears to be essential to maintain BAT lipid homeostasis. The upregulation of DNL after a combination of a HFD and  $\beta$ 3-adrenergic stimulation alters BAT morphology, mitochondrial dynamics, FA profiles in TAG and PL, as well as oxylipin content.

### **Acknowledgements.**

"This work was supported by the "Adipocible" Research Study Group supported by the French government through the France 2030 investment plan managed by the National Research Agency (ANR), as part of the Initiative of Excellence of Université Côte d'Azur under reference number ANR-15-IDEX-01", ANR HepAdialogue (ANR-17-CE14-0015), ANR Adipopiezo (ANR-19-CE14-0029) and by CNRS. PL.B. is supported by grants from ANR and from Université Côte d'Azur (ATER). We thank Dr. Justine Bertrand-Michel for oxylipin analysis through Metatoul platform (Toulouse, France).

### **Author contributions:**

**Declaration of interests:** The authors declare no competing interests

### **Supplemental information**

Supplemental information can be found online at:

## References

1. Collaborators, G.B.D.O., Afshin, A., Forouzanfar, M.H., Reitsma, M.B., Sur, P., Estep, K., Lee, A., Marczak, L., Mokdad, A.H., Moradi-Lakeh, M., et al. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N. Engl. J. Med.* *377*, 13-27. 10.1056/NEJMoa1614362.
2. Collaboration, N.C.D.R.F. (2024). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *Lancet* *403*, 1027-1050. 10.1016/S0140-6736(23)02750-2.
3. Gavalda-Navarro, A., Villarroya, J., Cereijo, R., Giralt, M., and Villarroya, F. (2022). The endocrine role of brown adipose tissue: An update on actors and actions. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* *23*, 31-41. 10.1007/s11154-021-09640-6.
4. Petrovic, N., Walden, T.B., Shabalina, I.G., Timmons, J.A., Cannon, B., and Nedergaard, J. (2010). Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* *285*, 7153-7164. M109.053942 [pii]  
10.1074/jbc.M109.053942.
5. Wu, J., Bostrom, 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. S0092-8674(12)00595-8 [pii]  
10.1016/j.cell.2012.05.016.
6. Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.J., Enerback, S., and Nuutila, P. (2009). Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1518-1525.
7. van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhommerig, J.W., Smulders, N.M., Drossaerts, J.M., Kemerink, G.J., Bouvy, N.D., Schrauwen, P., and Teule, G.J. (2009). Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N. Engl. J. Med.* *360*, 1500-1508.
8. 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.
9. Barquissau, V., Beuzelin, D., Pisani, D.F., Beranger, G.E., Mairal, A., Montagner, A., Roussel, B., Tavernier, G., Marques, M.A., Moro, C., et al. (2016). White-to-brite conversion in human adipocytes promotes metabolic reprogramming towards fatty acid anabolic and catabolic pathways. *Molecular metabolism* *5*, 352-365. 10.1016/j.molmet.2016.03.002.
10. Poulsen, L., Siersbaek, M., and Mandrup, S. (2012). PPARs: fatty acid sensors controlling metabolism. *Semin. Cell Dev. Biol.* *23*, 631-639. 10.1016/j.semcdb.2012.01.003.
11. Sun, C., Mao, S., Chen, S., Zhang, W., and Liu, C. (2021). PPARs-Orchestrated Metabolic Homeostasis in the Adipose Tissue. *Int J Mol Sci* *22*. 10.3390/ijms22168974.
12. Lasar, D., Rosenwald, M., Kiehlmann, E., Balaz, M., Tall, B., Opitz, L., Lidell, M.E., Zamboni, N., Krznar, P., Sun, W., et al. (2018). Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Controls Mature Brown Adipocyte Inducibility through Glycerol Kinase. *Cell reports* *22*, 760-773. 10.1016/j.celrep.2017.12.067.
13. Kersten, S., and Stienstra, R. (2017). The role and regulation of the peroxisome proliferator activated receptor alpha in human liver. *Biochimie* *136*, 75-84. 10.1016/j.biochi.2016.12.019.
14. Regnier, M., Polizzi, A., Smati, S., Lukowicz, C., Fougerat, A., Lippi, Y., Fouche, E., Lasserre, F., Naylies, C., Betoulieres, C., et al. (2020). Hepatocyte-specific deletion of Pparalpha promotes NAFLD in the context of obesity. *Sci. Rep.* *10*, 6489. 10.1038/s41598-020-63579-3.
15. Defour, M., Dijk, W., Ruppert, P., Nascimento, E.B.M., Schrauwen, P., and Kersten, S. (2018). The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha is dispensable for cold-induced

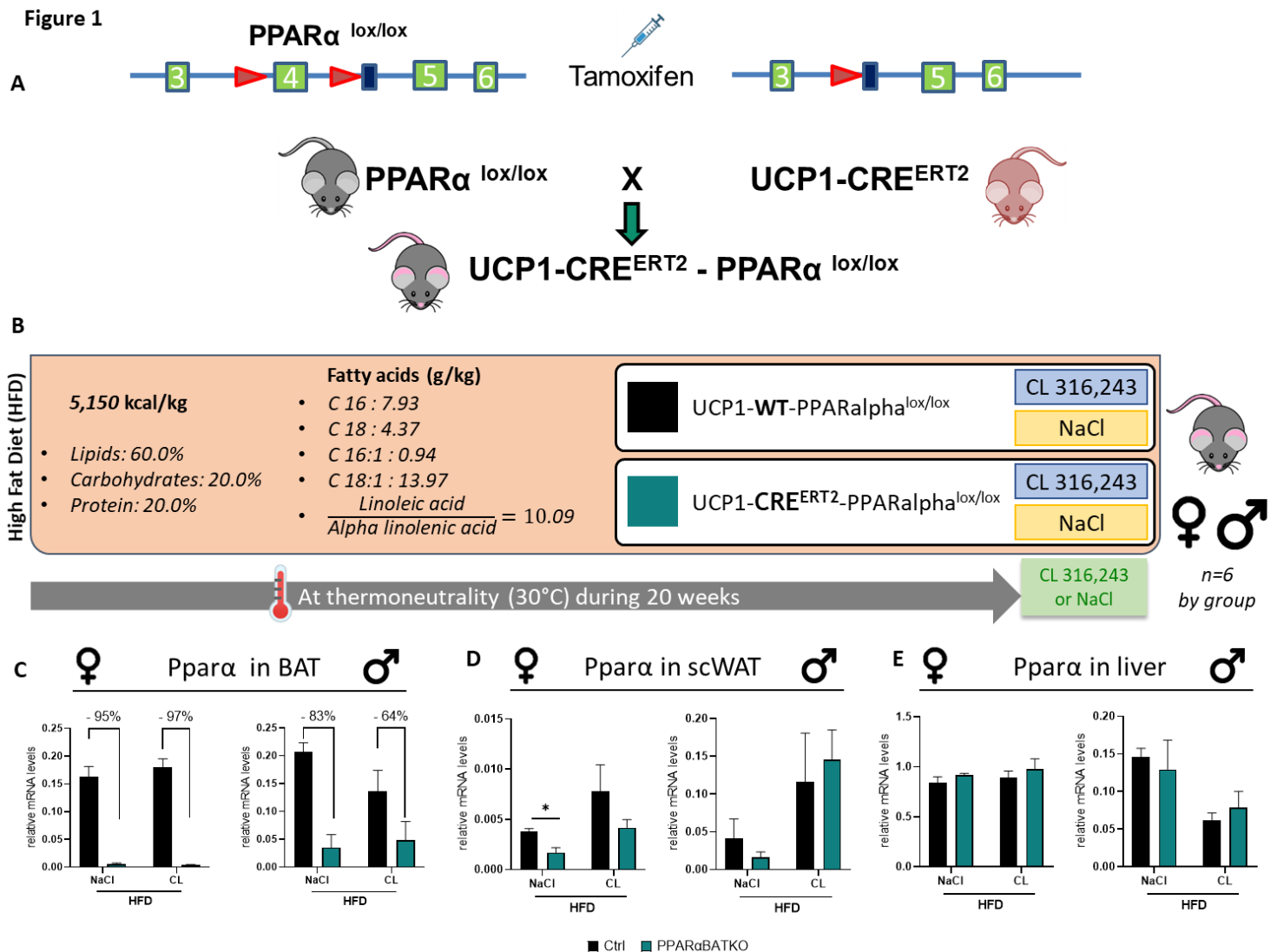
- adipose tissue browning in mice. *Molecular metabolism* *10*, 39-54. 10.1016/j.molmet.2018.01.023.
16. Kroon, T., Harms, M., Maurer, S., Bonnet, L., Alexandersson, I., Lindblom, A., Ahnmark, A., Nilsson, D., Gennemark, P., O'Mahony, G., et al. (2020). PPARgamma and PPARalpha synergize to induce robust browning of white fat in vivo. *Molecular metabolism* *36*, 100964. 10.1016/j.molmet.2020.02.007.
  17. Hinds, T.D., Jr., Kipp, Z.A., Xu, M., Yiannikouris, F.B., Morris, A.J., Stec, D.F., Wahli, W., and Stec, D.E. (2021). Adipose-Specific PPARalpha Knockout Mice Have Increased Lipogenesis by PASK-SREBP1 Signaling and a Polarity Shift to Inflammatory Macrophages in White Adipose Tissue. *Cells* *11*. 10.3390/cells11010004.
  18. Egusa, G., Ohno, H., Nagano, G., Sagawa, J., Shinjo, H., Yamamoto, Y., Himeno, N., Morita, Y., Kanai, A., Baba, R., et al. (2023). Selective activation of PPARalpha maintains thermogenic capacity of beige adipocytes. *iScience* *26*, 107143. 10.1016/j.isci.2023.107143.
  19. Elabd, C., Chiellini, C., Carmona, M., Galitzky, J., Cochet, O., Petersen, R., Penicaud, L., Kristiansen, K., Bouloumie, A., Casteilla, L., et al. (2009). Human multipotent adipose-derived stem cells differentiate into functional brown adipocytes. *Stem Cells* *27*, 2753-2760.
  20. Miranda, C.S., Silva-Veiga, F.M., Santana-Oliveira, D.A., Vasques-Monteiro, I.M.L., Daleprane, J.B., and Souza-Mello, V. (2024). PPARalpha/gamma synergism activates UCP1-dependent and -independent thermogenesis and improves mitochondrial dynamics in the beige adipocytes of high-fat fed mice. *Nutrition* *117*, 112253. 10.1016/j.nut.2023.112253.
  21. Araki, M., Nakagawa, Y., Oishi, A., Han, S.I., Wang, Y., Kumagai, K., Ohno, H., Mizunoe, Y., Iwasaki, H., Sekiya, M., et al. (2018). The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha (PPARalpha) Agonist Pemafibrate Protects against Diet-Induced Obesity in Mice. *Int J Mol Sci* *19*. 10.3390/ijms19072148.
  22. Goto, T., Hirata, M., Aoki, Y., Iwase, M., Takahashi, H., Kim, M., Li, Y., Jheng, H.F., Nomura, W., Takahashi, N., et al. (2017). The hepatokine FGF21 is crucial for peroxisome proliferator-activated receptor-alpha agonist-induced amelioration of metabolic disorders in obese mice. *J. Biol. Chem.* *292*, 9175-9190. 10.1074/jbc.M116.767590.
  23. Sanchez-Gurmaches, J., Tang, Y., Jespersen, N.Z., Wallace, M., Martinez Calejman, C., Gujja, S., Li, H., Edwards, Y.J.K., Wolfrum, C., Metallo, C.M., et al. (2018). Brown Fat AKT2 Is a Cold-Induced Kinase that Stimulates ChREBP-Mediated De Novo Lipogenesis to Optimize Fuel Storage and Thermogenesis. *Cell metabolism* *27*, 195-209 e196. 10.1016/j.cmet.2017.10.008.
  24. Ralston, J.C., and Mutch, D.M. (2015). SCD1 inhibition during 3T3-L1 adipocyte differentiation remodels triacylglycerol, diacylglycerol and phospholipid fatty acid composition. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* *98*, 29-37. 10.1016/j.plefa.2015.04.008.
  25. He, M., Li, Z., Tung, V.S.K., Pan, M., Han, X., Evgrafov, O., and Jiang, X.C. (2023). Inhibiting Phosphatidylcholine Remodeling in Adipose Tissue Increases Insulin Sensitivity. *Diabetes* *72*, 1547-1559. 10.2337/db23-0317.
  26. Morigny, P., Houssier, M., Mairal, A., Ghilain, C., Mouisel, E., Benhamed, F., Masri, B., Recazens, E., Denechaud, P.D., Tavernier, G., et al. (2019). Interaction between hormone-sensitive lipase and ChREBP in fat cells controls insulin sensitivity. *Nat Metab* *1*, 133-146. 10.1038/s42255-018-0007-6.
  27. Fougerat, A., Schoiswohl, G., Polizzi, A., Regnier, M., Wagner, C., Smati, S., Fougeray, T., Lippi, Y., Lasserre, F., Raho, I., et al. (2022). ATGL-dependent white adipose tissue lipolysis controls hepatocyte PPARalpha activity. *Cell reports* *39*, 110910. 10.1016/j.celrep.2022.110910.
  28. Mottillo, E.P., Bloch, A.E., Leff, T., and Granneman, J.G. (2012). Lipolytic products activate peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and delta in brown adipocytes to match fatty acid oxidation with supply. *J. Biol. Chem.* *287*, 25038-25048. 10.1074/jbc.M112.374041

M112.374041 [pii].



29. Li, P., Zhu, Z., Lu, Y., and Granneman, J.G. (2005). Metabolic and cellular plasticity in white adipose tissue II: role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ . *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *289*, E617-626. [10.1152/ajpendo.00010.2005](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00010.2005).
30. Song, Z., Xiaoli, A.M., and Yang, F. (2018). Regulation and Metabolic Significance of De Novo Lipogenesis in Adipose Tissues. *Nutrients* *10*. [10.3390/nu10101383](https://doi.org/10.3390/nu10101383).
31. Guilherme, A., Rowland, L.A., Wetoska, N., Tsagkaraki, E., Santos, K.B., Bedard, A.H., Henriques, F., Kelly, M., Munroe, S., Pedersen, D.J., et al. (2023). Acetyl-CoA carboxylase 1 is a suppressor of the adipocyte thermogenic program. *Cell reports* *42*, 112488. [10.1016/j.celrep.2023.112488](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112488).
32. Liu, K., Lin, L., Li, Q., Xue, Y., Zheng, F., Wang, G., Zheng, C., Du, L., Hu, M., Huang, Y., et al. (2020). Scd1 controls de novo beige fat biogenesis through succinate-dependent regulation of mitochondrial complex II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *117*, 2462-2472. [10.1073/pnas.1914553117](https://doi.org/10.1073/pnas.1914553117).
33. Vijayakumar, A., Aryal, P., Wen, J., Syed, I., Vazirani, R.P., Moraes-Vieira, P.M., Camporez, J.P., Gallop, M.R., Perry, R.J., Peroni, O.D., et al. (2017). Absence of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Adipocytes Causes Systemic Insulin Resistance and Impairs Glucose Transport. *Cell reports* *21*, 1021-1035. [10.1016/j.celrep.2017.09.091](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.09.091).
34. Iizuka, K., Wu, W., Horikawa, Y., Saito, M., and Takeda, J. (2013). Feedback looping between ChREBP and PPAR $\alpha$  in the regulation of lipid metabolism in brown adipose tissues. *Endocr. J.* *60*, 1145-1153. [10.1507/endocrj.ej13-0079](https://doi.org/10.1507/endocrj.ej13-0079).
35. Mottillo, E.P., Balasubramanian, P., Lee, Y.H., Weng, C., Kershaw, E.E., and Granneman, J.G. (2014). Coupling of lipolysis and de novo lipogenesis in brown, beige, and white adipose tissues during chronic beta3-adrenergic receptor activation. *J. Lipid Res.* *55*, 2276-2286. [10.1194/jlr.M050005](https://doi.org/10.1194/jlr.M050005).
36. Lundgren, P., Sharma, P.V., Dohnalova, L., Coleman, K., Uhr, G.T., Kircher, S., Litichevskiy, L., Bahnsen, K., Descamps, H.C., Demetriadou, C., et al. (2023). A subpopulation of lipogenic brown adipocytes drives thermogenic memory. *Nat Metab* *5*, 1691-1705. [10.1038/s42255-023-00893-w](https://doi.org/10.1038/s42255-023-00893-w).
37. Caesar, R., Manieri, M., Kelder, T., Boekschoten, M., Evelo, C., Muller, M., Kooistra, T., Cinti, S., Kleemann, R., and Drevon, C.A. (2010). A combined transcriptomics and lipidomics analysis of subcutaneous, epididymal and mesenteric adipose tissue reveals marked functional differences. *PLoS One* *5*, e11525. [10.1371/journal.pone.0011525](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011525).
38. Eissing, L., Scherer, T., Todter, K., Knippschild, U., Greve, J.W., Buurman, W.A., Pinnschmidt, H.O., Rensen, S.S., Wolf, A.M., Bartelt, A., et al. (2013). De novo lipogenesis in human fat and liver is linked to ChREBP-beta and metabolic health. *Nat Commun* *4*, 1528. [10.1038/ncomms2537](https://doi.org/10.1038/ncomms2537).
39. Tang, Y., Wallace, M., Sanchez-Gurmaches, J., Hsiao, W.Y., Li, H., Lee, P.L., Vernia, S., Metallo, C.M., and Guertin, D.A. (2016). Adipose tissue mTORC2 regulates ChREBP-driven de novo lipogenesis and hepatic glucose metabolism. *Nat Commun* *7*, 11365. [10.1038/ncomms11365](https://doi.org/10.1038/ncomms11365).
40. Schlein, C., Fischer, A.W., Sass, F., Worthmann, A., Todter, K., Jaeckstein, M.Y., Behrens, J., Lynes, M.D., Kiebish, M.A., Narain, N.R., et al. (2021). Endogenous Fatty Acid Synthesis Drives Brown Adipose Tissue Involution. *Cell reports* *34*, 108624. [10.1016/j.celrep.2020.108624](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108624).
41. Wei, C., Wang, P., Dong, Q., Ma, X.H., Lu, M., Qi, S., Shi, J.H., Xie, Z., Ren, A.J., and Zhang, W.J. (2022). ChREBP-regulated lipogenesis is not required for the thermogenesis of brown adipose tissue. *Int. J. Obes. (Lond.)* *46*, 1068-1075. [10.1038/s41366-022-01082-7](https://doi.org/10.1038/s41366-022-01082-7).
42. Wei, C., Ma, X., Su, K., Qi, S., Zhu, Y., Lin, J., Wang, C., Yang, R., Chen, X., Wang, W., and Zhang, W.J. (2020). ChREBP-beta regulates thermogenesis in brown adipose tissue. *J. Endocrinol.* *245*, 343-356. [10.1530/JOE-19-0498](https://doi.org/10.1530/JOE-19-0498).
43. Katz, L.S., Brill, G., Zhang, P., Kumar, A., Baumel-Alterzon, S., Honig, L.B., Gomez-Banoy, N., Karakose, E., Tanase, M., Doridot, L., et al. (2022). Maladaptive positive feedback production of ChREBPbeta underlies glucotoxic beta-cell failure. *Nat Commun* *13*, 4423. [10.1038/s41467-022-32162-x](https://doi.org/10.1038/s41467-022-32162-x).

44. Gliniak, C.M., Pedersen, L., and Scherer, P.E. (2023). Adipose tissue fibrosis: the unwanted houseguest invited by obesity. *J. Endocrinol.* 259. 10.1530/JOE-23-0180.
45. Pellegrinelli, V., Figueroa-Juarez, E., Samuelson, I., M, U.D., Rodriguez-Fdez, S., Virtue, S., Leggat, J., Cubuk, C., Peirce, V.J., Niemi, T., et al. (2023). Defective extracellular matrix remodeling in brown adipose tissue is associated with fibro-inflammation and reduced diet-induced thermogenesis. *Cell reports* 42, 112640. 10.1016/j.celrep.2023.112640.
46. Mooli, R.G.R., Mukhi, D., Chen, Z., Buckner, N., and Ramakrishnan, S.K. (2020). An indispensable role for dynamin-related protein 1 in beige and brown adipogenesis. *J. Cell Sci.* 133. 10.1242/jcs.247593.
47. Li, X., Yang, L., Mao, Z., Pan, X., Zhao, Y., Gu, X., Eckel-Mahan, K., Zuo, Z., Tong, Q., Hartig, S.M., et al. (2020). Novel role of dynamin-related-protein 1 in dynamics of ER-lipid droplets in adipose tissue. *FASEB J.* 34, 8265-8282. 10.1096/fj.201903100RR.
48. Sakiyama, H., Li, L., Kuwahara-Otani, S., Nakagawa, T., Eguchi, H., Yoshihara, D., Shinohara, M., Fujiwara, N., and Suzuki, K. (2021). A lack of ChREBP inhibits mitochondrial cristae formation in brown adipose tissue. *Mol. Cell. Biochem.* 476, 3577-3590. 10.1007/s11010-021-04178-2.
49. Iwase, M., Tokiwa, S., Seno, S., Mukai, T., Yeh, Y.S., Takahashi, H., Nomura, W., Jheng, H.F., Matsumura, S., Kusudo, T., et al. (2020). Glycerol kinase stimulates uncoupling protein 1 expression by regulating fatty acid metabolism in beige adipocytes. *J. Biol. Chem.* 295, 7033-7045. 10.1074/jbc.RA119.011658.
50. Ghandour, R.A., Giroud, M., Vegiopoulos, A., Herzig, S., Ailhaud, G., Amri, E.Z., and Pisani, D.F. (2016). IP-receptor and PPARs trigger the conversion of human white to brite adipocyte induced by carbaprostacyclin. *Biochim. Biophys. Acta* 1861, 285-293. 10.1016/j.bbaliip.2016.01.007.
51. Vegiopoulos, A., Muller-Decker, K., Strzoda, D., Schmitt, I., Chichelnitskiy, E., Ostertag, A., Berriel Diaz, M., Rozman, J., Hrabe de Angelis, M., Nusing, R.M., et al. (2010). Cyclooxygenase-2 controls energy homeostasis in mice by de novo recruitment of brown adipocytes. *Science* 328, 1158-1161. science.1186034 [pii] 10.1126/science.1186034.
52. Koo, H.Y., Miyashita, M., Cho, B.H., and Nakamura, M.T. (2009). Replacing dietary glucose with fructose increases ChREBP activity and SREBP-1 protein in rat liver nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390, 285-289. 10.1016/j.bbrc.2009.09.109.
53. Beranger, G.E., Pisani, D.F., Castel, J., Djedaini, M., Battaglia, S., Amiaud, J., Boukhechba, F., Ailhaud, G., Michiels, J.F., Heymann, D., et al. (2014). Oxytocin reverses ovariectomy-induced osteopenia and body fat gain. *Endocrinology* 155, 1340-1352. 10.1210/en.2013-1688.
54. Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., et al. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin. Chem.* 55, 611-622. 10.1373/clinchem.2008.112797.
55. Pisani, D.F., Ghandour, R.A., Beranger, G.E., Le Faouder, P., Chambard, J.C., Giroud, M., Vegiopoulos, A., Djedaini, M., Bertrand-Michel, J., Tauc, M., et al. (2014). The omega6-fatty acid, arachidonic acid, regulates the conversion of white to brite adipocyte through a prostaglandin/calcium mediated pathway. *Molecular metabolism* 3, 834-847. 10.1016/j.molmet.2014.09.003.
56. Le Faouder, P., Baillif, V., Spreadbury, I., Motta, J.P., Rousset, P., Chene, G., Guigne, C., Terce, F., Vanner, S., Vergnolle, N., et al. (2013). LC-MS/MS method for rapid and concomitant quantification of pro-inflammatory and pro-resolving polyunsaturated fatty acid metabolites. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 932, 123-133. 10.1016/j.jchromb.2013.06.014.



**Figure 1: Generation of PPAR $\alpha$ BATKO mice showing deletion of PPAR $\alpha$  specifically in brown adipose tissue**

(A) Schematic representation for the generation of PPAR $\alpha$ BATKO.

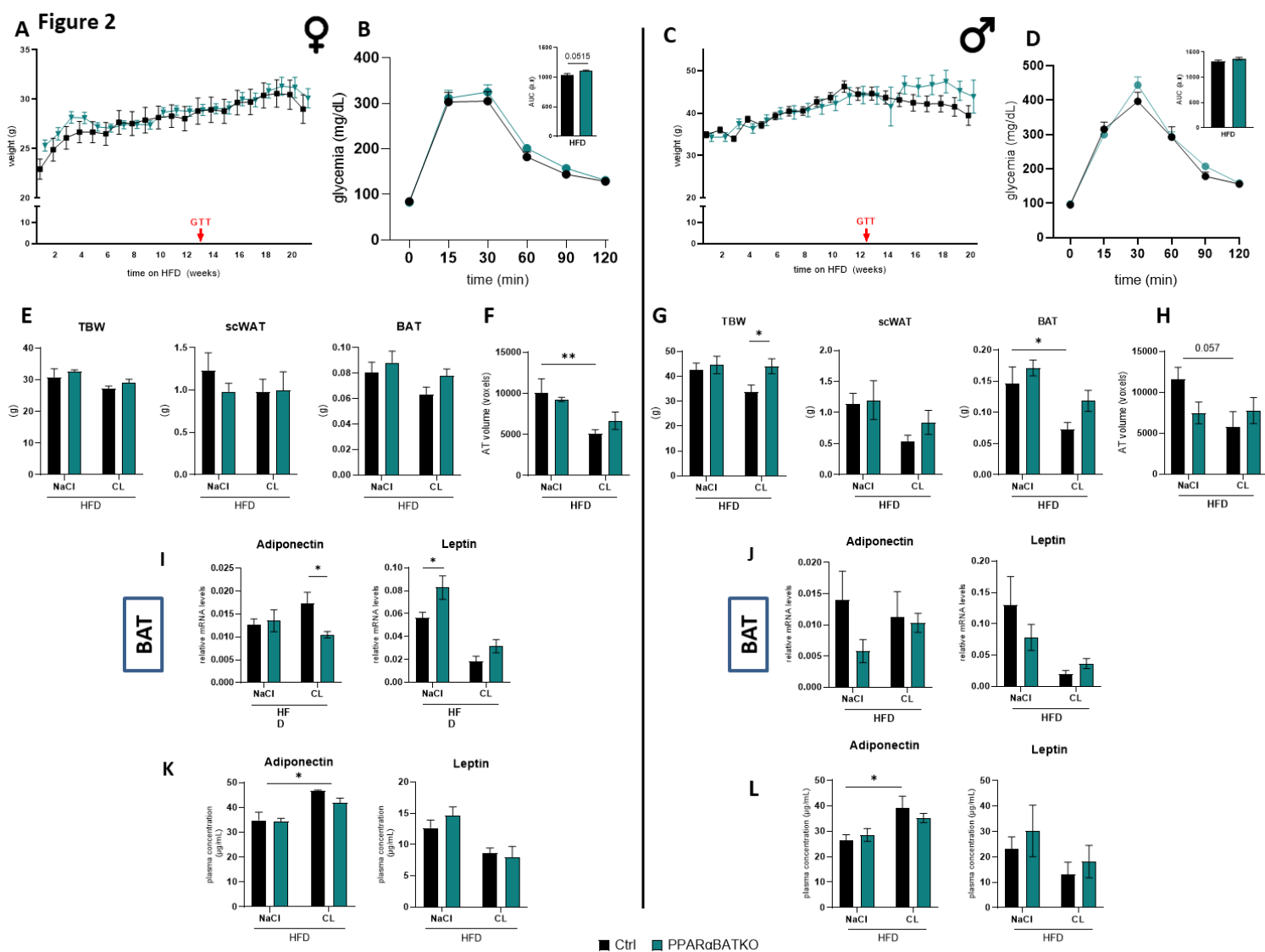
(B) Experimental design. Control (UCP1-WT-PPAR $\alpha$ lox/lox) and PPAR $\alpha$ BATKO (UCP1-CRE<sup>E<sup>RT</sup>2</sup>-PPAR $\alpha$ lox/lox) were housed at thermoneutrality and fed a high fat diet (HFD) for 20 weeks and daily injected with 1 mg/kg of CL316,243 or NaCl the last week of the experiment.

(C) Relative mRNA levels of Ppar $\alpha$  in brown adipose tissue (BAT) of female and male adult mice (n=5-6 per group).

(D) Relative mRNA levels of Ppar $\alpha$  in subcutaneous (scWAT) of female and male mice (n=5-6 per group).

(E) Relative mRNA levels of Ppar $\alpha$  in liver of female and male mice (n=3 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test (C, E) or Mann-Whitney test (D); \* P < 0.05.



## Figure 2: BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ does not alter glucose tolerance or weight gain in HFD-induced obese mice

(A, C) Growth curves of control and PPAR $\alpha$ BATKO female (A) and male (C) mice (n=12 per group) on high fat diet (HFD) during 20 weeks.

(B, D) Glucose tolerance test (GTT) after 13 weeks of HFD, and corresponding area under curves (AUC) (n=8-12 per group).

(E, G) Total Body weight (TBW), subcutaneous white adipose tissue (scWAT) fat pad and intrascapular brown adipose tissue (BAT) weights in female (E) and male (G) mice (n=4-6 per group).

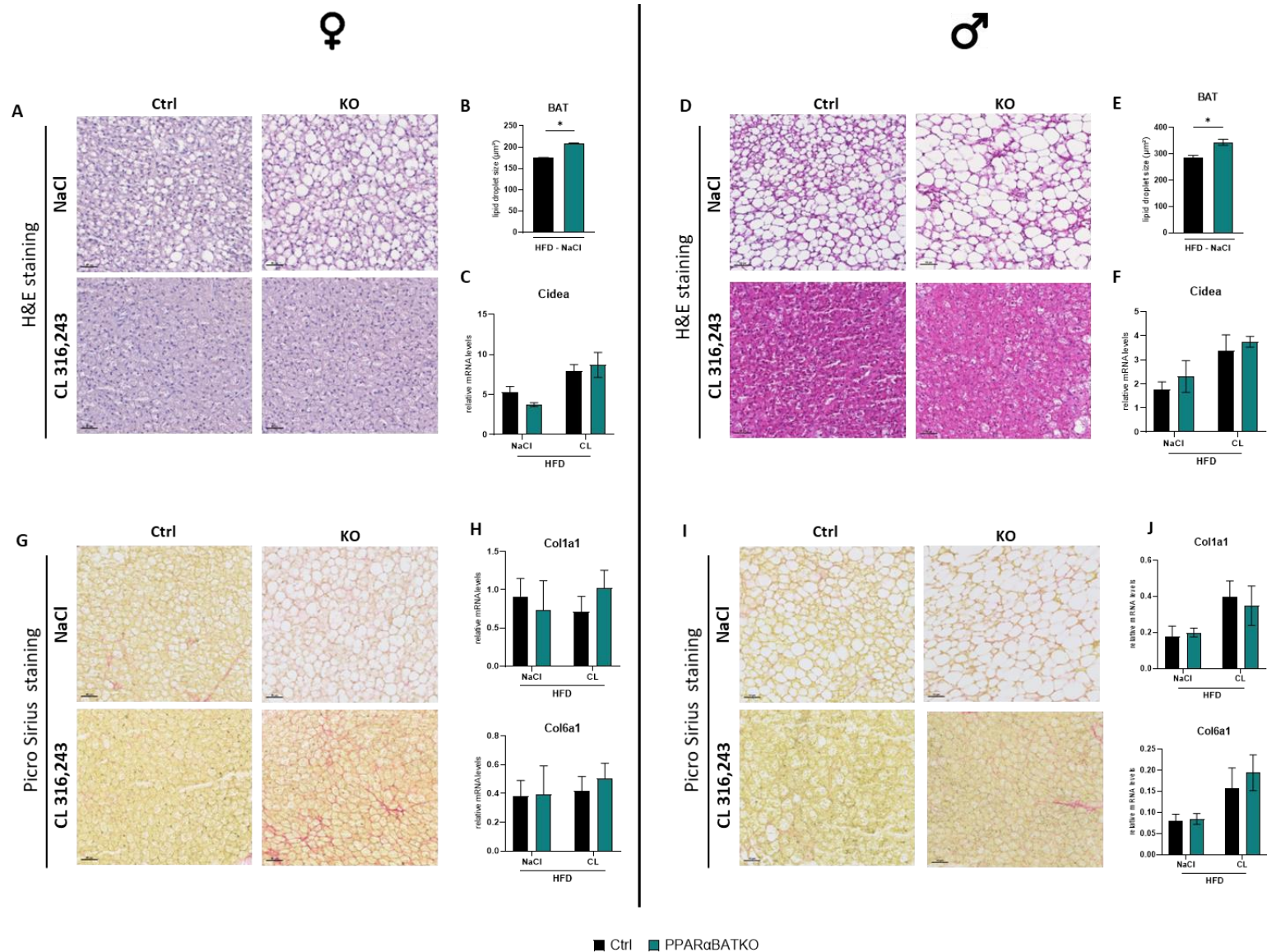
(F, H) Total Adipose tissue volume estimation assessed by tomography in female (F) and male (H) adult mice (n=3-6 per group).

(I, J) Relative mRNA levels of Adiponectin and Leptin in BAT of female (I) and male (J) adult mice (n=4-6 per group).

(K, L) Plasma levels of Adiponectin and Leptin in female (K) and male (L) mice (n=4-6 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šidák's post hoc test, Mann-Whitney test (E for TBW, J for Adiponectin) or student t-test for AUC. \*P < 0.05.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ 3-adrenergic agonist).



### Figure 3: BAT specific deletion of PPAR $\alpha$ remodels BAT morphology in HFD-induced obese mice

(A, D) Representative H&E staining of brown adipose tissue (BAT) in female (A) and male (D) mice fed a HFD (scale=50 $\mu$ m).

(B, E) Quantification of BAT lipid droplet area in female (B) and male (E) mice treated with vehicle (NaCl).

(C, F) Relative mRNA levels of Cidea in BAT of female (C) and male (F) mice (n=4-6 per group).

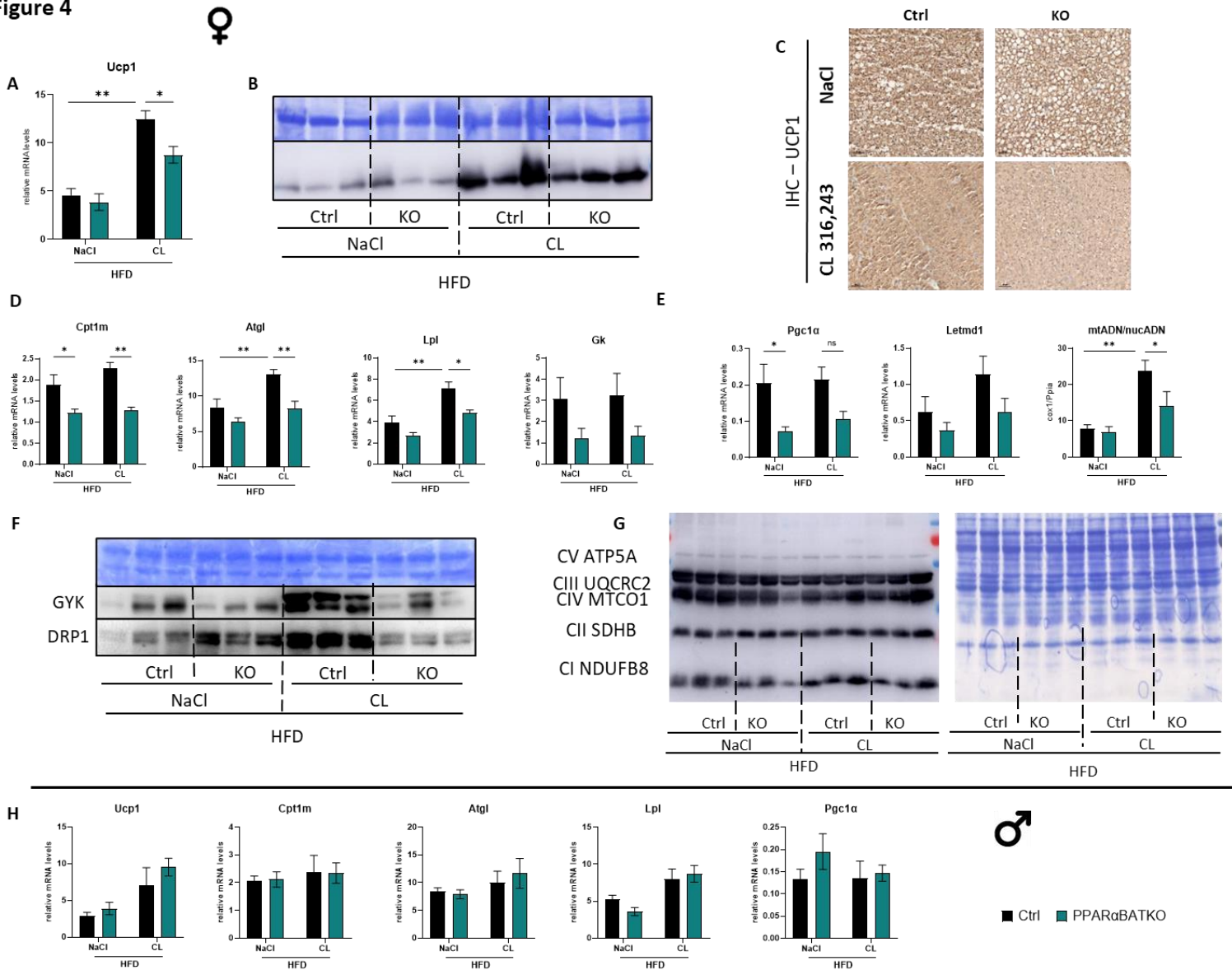
(G, I) Representative Picro-Sirius staining of BAT in female (G) and male (I) mice (scale=50 $\mu$ m).

(H, J) Relative mRNA levels of Col1a1 and Col6a1 in BAT of female (H) and male (J) mice (n=4-6 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using unpaired two-tailed Student's t test (B, D), Mann-Whitney test (H, J for Col1a1) or 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test (C, F, J for Col6a1) . \*P < 0.05.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ 3-adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO: PPAR $\alpha$ BATKO mice.

**Figure 4**



**Figure 4: BAT specific deletion of PPAR $\alpha$  impairs BAT thermogenic capacity and mitochondrial dynamics only in obese female mice fed a HFD**

(A) Relative mRNA levels of Ucp1 in brown adipose tissue (BAT) of female mice (n=4-6 per group).

(B) UCP1 protein content in BAT of female mice.

(C) Representative IHC staining of UCP1 protein in BAT of female mice.

(D) Relative mRNA levels of Cpt1m, Atgl, Lpl and Gk in BAT of female mice (n=4-6 per group).

(E) Relative mRNA levels of Pparg1a, Letmd1 and mitochondrial DNA content in BAT of female mice (n=4-6 per group).

(F) MFN2, DRP1 and GK protein contents in BAT of female mice.

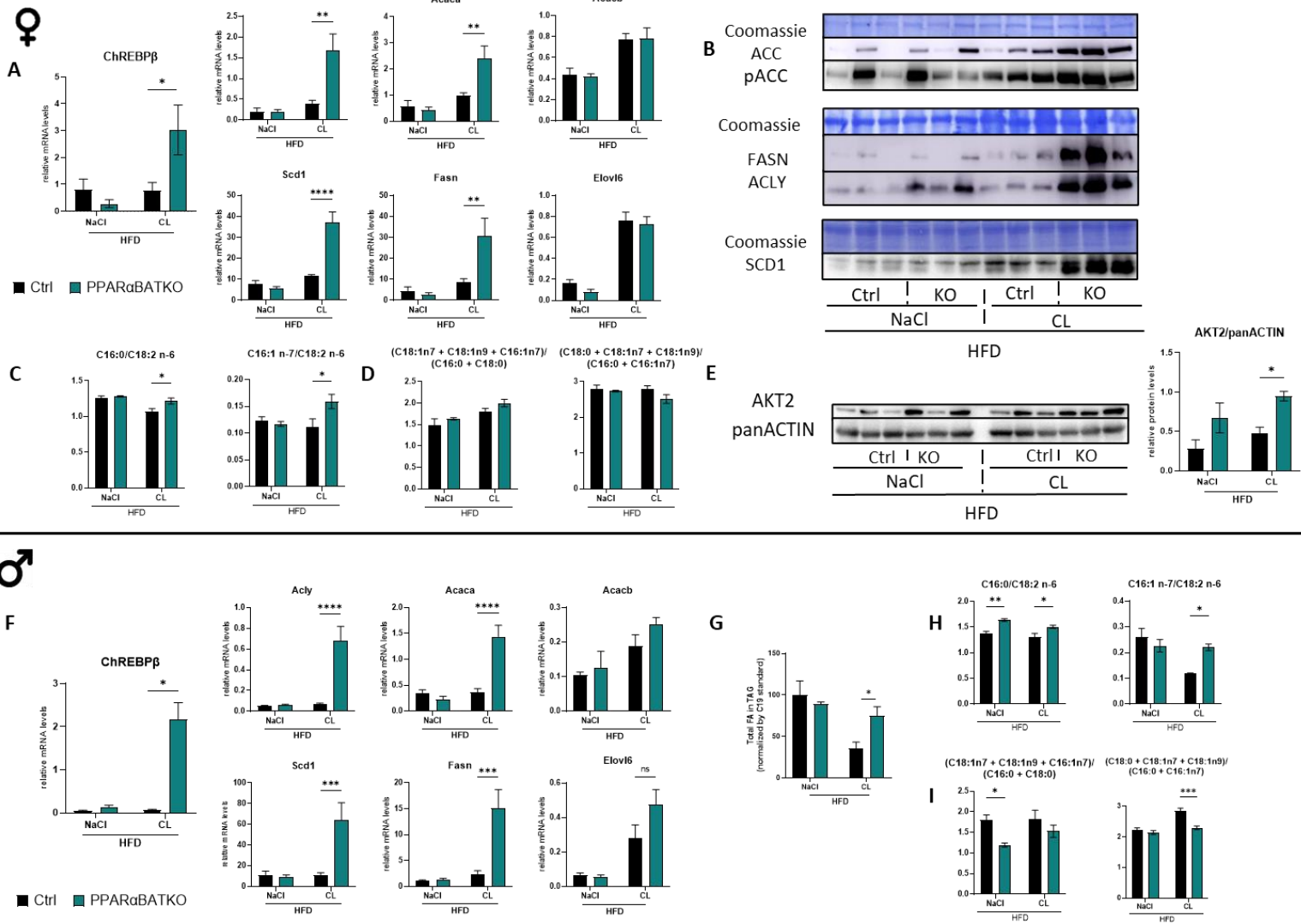
(G) OXPHOS protein content in BAT of female mice.

(H) Relative mRNA levels of Ucp1, Cpt1m, Atgl, Lpl and Pparg1a in BAT of male mice (n=4-6 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šidák's post hoc test. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ 3-adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO : PPAR $\alpha$ BATKO mice.

**Figure 5**



**Figure 5: BAT specific deletion of PPAR $\alpha$  increases BAT De Novo Lipogenesis after  $\beta$ 3-stimulation in HFD-induced obese mice**

(A, F) Relative mRNA levels of De Novo Lipogenesis (DNL) genes in brown adipose tissue (BAT) of female (A) and male (F) mice (n=4-6 per group).

(B) DNL proteins content in BAT of female mice.

(C, H) Lipogenic indexes in BAT triglycerides of female (C) and male (H) mice (n=4 per group)

(D, I) SCD1 activity ratio and ELOVL6 activity ratio in BAT triglycerides of female (D) and male (I) mice (n=4 per group).

(E) AKT2 protein content in BAT of female mice.

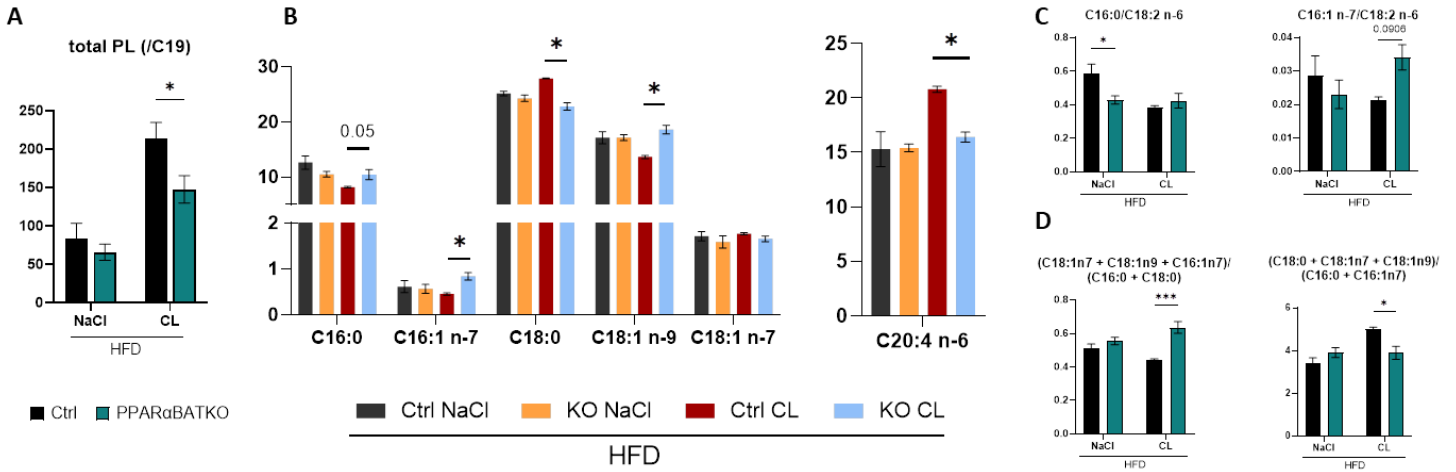
(G) Relative fatty acid content in BAT triglycerides compared to internal standard C19 of male mice (n=4 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test or Mann-Whitney test (A for Chrebpb, Acly, Fasn, and E, Chrebpb, Acly, Acaca, Scd1, Fasn). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01.

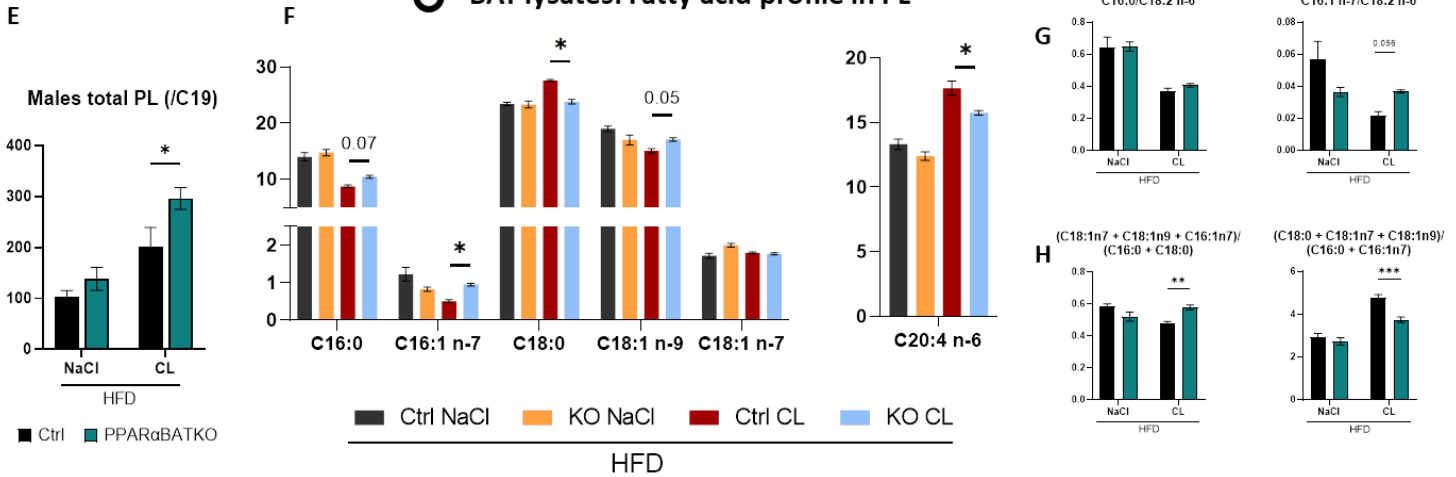
NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ 3-adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO : PPAR $\alpha$ BATKO mice.

Figure 6

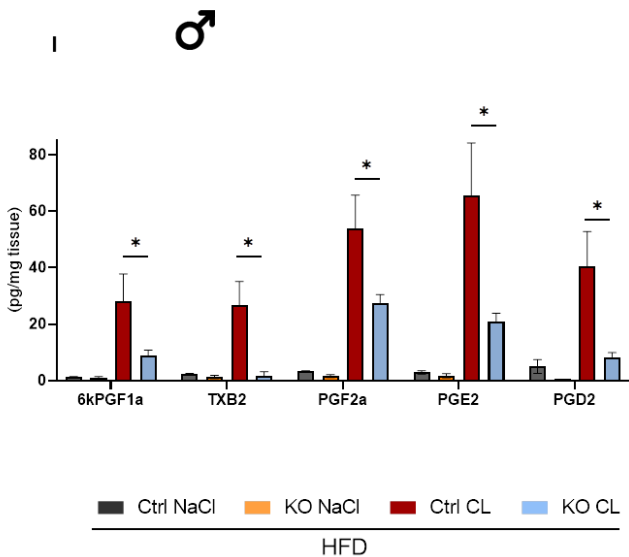
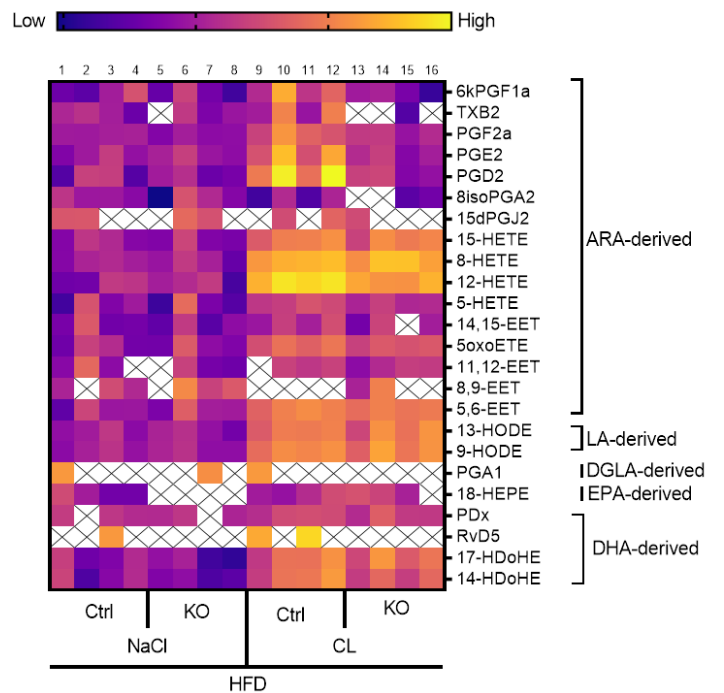
♀ BAT lysates: Fatty acid profile in PL



♂ BAT lysates: Fatty acid profile in PL



relative concentration compared to HFD Ctrl NaCl





**Figure 6: BAT specific deletion of PPAR $\alpha$  alters phospholipid fatty acid profile and oxylin content in BAT after B3-stimulation in HFD-induced obese mice**

(A, E) Relative phospholipid content in brown adipose tissue (BAT) of female (A) and male (E) mice (n=4 per group).

(B, F) Phospholipid fatty acid profile in BAT of female (B) and male (F) mice fed a HFD and challenged with CL316,243 (CL) or vehicle (NaCl) (n=4 per group).

(C, G) Lipogenic indexes in BAT phospholipid of female (C) and male (G) mice (n=4 per group).

(D, H) SCD1 and ELOVL6 ratios in BAT phospholipid of female (D) and male (H) mice (n=4 per group).

(I) Relative abundance of cox2-derived oxylin content in BAT of male mice (n=4 per group).

(J) Heatmap of normalized oxylin content.

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test. \*P < 0.05.

Ctrl: control mice; KO : PPAR $\alpha$ BATKO mice.

# STAR★Methods

## [Key resources table](#)

REAGENT or RESOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
<b>Antibodies</b>		
UCP1	Abcam	Ab10983
GK1	Santa Cruz	sc-393555
DRP1	CST	#5391
OXPHOS	Abcam	ab110413
ACC	CST	#3662
Phospho-ACC1 (Ser79)[Ser80]	Affinity	AF3421
FASN	ABclonal	A19050
ACLY	Santa Cruz	sc-517267
SCD	ABclonal	A16429
panACTIN	CST	#8456
AKT2	CST	#2964
Anti-Mouse IgG (H+L), HRP Conjugate	Promega	W402B
Anti-Rabbit IgG (H+L), HRP Conjugate	Promega	W401B
<b>Chemicals, peptides, and recombinant proteins</b>		
CL316,243		
Tamoxifen	Sigma	T5648-5G
sunflower seed oil	Sigma	S5007
<b>Critical commercial assays</b>		
Fibroblast Growth Factor 21 Mouse/Rat ELISA	Biovendor	RD291108200R
Adiponectin (mouse) ELISA	Bertin Bioreagent	A05187
Leptin (mouse, rat) ELISA	Bertin Bioreagent	A05176
<b>Deposited data</b>		
<b>Experimental models: Organisms/strains</b>		
Mouse: C57BL/6N UCP1-CRE <sup>ERT2</sup>	Christian Wolfrum	
Mouse: C57BL/6N PPARalpha <sup>lox/lox</sup>	Chrstitian Wolfrum	
<b>Oligonucleotides</b>		
COX1 (mitochondrial DNA)-F	ACTATACTACTACTAACAGACC G	
COX1 (mitochondrial DNA)-R	GGTTCTTTTTTTCCGGAGTA	
PPIA (nuclear DNA)-F	ACACGCCATAATGGCACTGG	
PPIA (nuclear DNA)-R	CAGTCTTGGCAGTGCAGAT	
Ppara-F	AGTTCACGCATGTGAAGGCTG	
Ppara-R	TGTTCCGGTTCTTCTTCTGAATC	
Pparg-F	CATAAAGTCCTTCCCGCTGA	

Pparg-R	GAAACTGGCACCCCTTGAAAA	
Ppard-F	AGATGGTGGCAGAGCTATGAC C	
Ppard-R	TCCTCCTGTGGCTGTTCC	
Adiponectin-F	GGAGAGAAAGGAGATGCAGGT	
Adiponectin-R	CTTTCCTGCCAGGGGTTTC	
Leptin-F	CAGGATCAATGACATTTACAC A	
Leptin-R	GCTGGTGAGGACCTGTTGAT	
Ucp1-F	CACCTTCCCGCTGGACACT	
Ucp1-R	CCTGGCCTTCACCTTGGAT	
Cidea-F	CTGTCTCAATGTCAAAGCCACG	
Cidea-R	GAAGTGTCCCGTCATCTGTGC	
Cpt1m-F	TGCCTTTACATCGTCTCCAA	
Cpt1m-R	GGCTCCAGGGTTCAGAAAGT	
Atgl-F	CAAGGGGTGCGCTCTGTGGATG G	
Atgl-R	AGGCGGTAGAGATTGCGAAGG TTG	
Lpl-F	TTATCCCAATGGAGGCACTTT	
Lpl-R	CACGTCTCCGAGTCTCTCTC	
Gk-F	CAAATGCAAGCAGGACGATG	
Gk-R	AGGCCCCAGCTTTCATTAGG	
Ppargc1a-F	GAAAGGGCCAAACAGAGAGA	
Ppargc1a-R	GTAAATCACACGGCGCTCTT	
Letmd1-F	CTACCCACATTGCTGACGAC	
Letmd1-R	GGGACAGCTCGGGTTCTT	
Mlxipl(ChREBP $\alpha$ )-F	CGACACTCACCCACCTCTTC	
Mlxipl(ChREBP $\alpha$ )-R	TTGTTTCAGCCGGATCTTGTCT	
Mlxipl(ChREBP $\beta$ )-F	TCTGCAGATCGCGTGGAG	
Mlxipl(ChREBP $\beta$ )-R	CTTGTCCCGGCATAGCAAC	
Srebf1-F	GCATGCCATGGGCAAGTAC	
Srebf1-R	TGTTGCCATGGAGATAGCATCT	
Acly-F	TGTGCTCGGGCTGGGAAGGAC	
Acly-R	GTGGCGGGGAAGTGTGTTTGA	
Acaca-F	GAAGGCATCCCACGCATCT	
Acaca-R	GCGTATTTCTTCTGCAAGTCCA A	
Acacb-F	CTCGAAGCCGCTCACCAA	
Acacb-R	GAAAGGGACTCCTCGTTGAA	
Scd1-F	CCTTCCCCTTCGACT	
Scd1-R	GCCATGCAGTCGATG	
Fasn-F	GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT	
Fasn-R	AGAGACGTGTCACTCCTGGACT T	
Elovl6-F	TCAGCAAAGCACCCGAAC	
Elovl6-R	AGCGACCATGTCTTTGTAGGAG	
Cox2-F	TGCTGGTGGAAAAACCTCGT	
Cox2-R	AAAACCCACTTCGCCTCCAA	
Col1a1-F	GCTCCTCTTAGGGGCCACT	
Col1a1-R	CCACGTCTCACCATTGGGG	
Col3a1-F	CTGTAACATGGAAACTGGGGA AA	
Col3a1-R	CCATAGCTGAACTGAAAACCAC C	

Col6a1-F	CTGCTGCTACAAGCCTGCT	
Col6a1-R	CCCCATAAGGTTTCAGCCTCA	
36b4-F	CTTTATCAGCTGCACATCACTC AGA	
34b4-R	TCCAGGCTTTGGGCATCA	
Software and algorithms		
GraphPad Prism v9.1.1	GraphPad Software Inc.	<a href="https://www.graphpad.com/">https://www.graphpad.com/</a>
Fiji	ImageJ	<a href="https://imagej.net/">https://imagej.net/</a>
Other		

## Resource availability

### Lead contact

Isabelle Mothe-Satney, Ph.D. iBV, Institut de Biologie Valrose, Université Côte d'Azur, CNRS UMR 7277, Inserm U1091; Faculté de Médecine; 28, avenue de Valombrose, 06107 Nice, France. E-mail [Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr](mailto:Isabelle.SATNEY@univ-cotedazur.fr); Tel: +33

### Materials availability

This study did not generate new unique reagents

### Data and code availability

- All original data reported in this manuscript will be shared by the lead contact upon request or are included in the original figures or the supplemental information.
- This study did not generate any original code.
- Any other data presented in this manuscript can be obtained by contacting the lead author upon request.

## Experimental model and study participant details

### Method details

#### *Animals and housing*

The experiments were conducted in accordance with the French and European regulations (directive 2010/63/EU) for the care and use of research animals and were approved by national experimentation

committees. Male and female mice of the inbred strain C57BL/6N were bred and housed at room temperature ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) with 12:12 h light-dark cycles and fed chow diet with ad libitum access to food and water prior to the beginning of experiments. At the age of 7–9 weeks, mice were transferred to ventilated cabinets at thermoneutrality.

UCP1-CREERT2-PPAR $\alpha$ lox/lox (PPAR $\alpha$ BATKO) and UCP1-WT-PPAR $\alpha$ lox/lox (Ctrl) mice were kindly provided by Dr. Christian Wolfrum. At the age of 15-16 week, PPAR $\alpha$ BATKO and control littermates were divided in 2 groups, fed for 20 weeks either a chow or high fat diet (60% energy content as lipids). After 13 weeks of diet, glucose tolerance was assessed. Briefly, after 6 h of fasting, mice received an intraperitoneal injection of glucose (2 g/kg body weight). Blood glucose levels were measured at incised tail tips before (0 min) and at 15, 30, 60, 90 and 120 min after glucose injection.  $\beta$ 3-adrenergic receptor stimulation was carried out during the last week of the diet treatment by daily intra-peritoneal injections of CL316,243 (1 mg/kg in saline solution) at the same time of the day. Control mice were injected with vehicle only. 1 day after the last CL316,243 injection, mice were anesthetized, tomographed, blood was recovered through heart puncture and euthanized. Blood, interscapular BAT (iBAT), epididymal WAT (eWAT), inguinal subcutaneous WAT (scWAT) and liver were sampled and used for different analyses.

## **METHOD DETAILS**

### **Tamoxifen injections**

Tamoxifen (T5648-5G) was dissolved in sunflower seed oil (Sigma, S5007) at a concentration of 15 mg/mL by incubating at  $42^\circ\text{C}$  overnight. The mice were then intraperitoneally injected with tamoxifen at a dosage of 60 mg/kg the first three days of the experiment, then every three weeks to induce CREERT2 activity.

### **Tomography**

Adipose tissue quantification was carried out using a SkyScan1178 X-ray micro-CT system as previously described<sup>53</sup>. Briefly, mice were anesthetized and scanned using the following parameters: 104  $\mu\text{m}$  of voxel size, 49 kV, 0.5 mm thick aluminum filter,  $0.9^\circ$  of rotation step. Vertebrae size and total adipose tissue volume was measured between caudal vertebra 1 (C1) and thoracic vertebra 13 (T13) whereas subcutaneous (scWAT) and intra-abdominal (iaWAT) white adipose tissue surface were measured on one section between the lumbar 5 (L5) and the lumbar 6 (L6) level. 3D reconstructions and analysis of adipose tissue areas or volumes were performed using NRecon and CTAn software (Skyscan).

### **Histology**

Inguinal WAT, interscapular BAT and liver were fixed in 4% (V/V) paraformaldehyde for 48 h then stored in 0.4% (V/V) paraformaldehyde until processed. Following dehydration and paraffin-embedding, 5  $\mu\text{m}$  sections were stained with hematoxylin and eosin. Sections were mounted, dried and analyzed by bright field microscopy (Slide Scanner Vectra Polaris). Adipocyte and lipid droplet area were quantified with Fiji software. Displayed images are representative of four to six mice per group analyzed.

*For immunohistochemical analysis of UCP1 content, the adipose tissue sections were permeabilized and incubated overnight at 4 °C with rabbit polyclonal anti-UCP1 antibody (1:400, #ab10983, Abcam, Cambridge, UK) and then incubated with HRP-polymer conjugated anti rabbit at room temperature for 2 h. Staining was then amplified and visualized with VECTASTAIN® ABC-HRP Kit, Peroxidase (PK-4000) and DAB Substrate Kit, Peroxidase (HRP), (SK-4100) and imaged with a Vectra Polaris slide scanner.*

### *Isolation and Analysis of RNA*

*These procedures followed Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (MIQE) standard recommendations and were conducted as described previously<sup>54,55</sup>. Total RNA was extracted using TRI-Reagent kit (Euromedex, Souffelweyersheim, France) according to the manufacturer's instructions. RT-PCR was performed on 1µg of RNA using M-MLV-RT (Promega). Quantitative PCR (qPCR) was performed using ONEGreen® Fast qPCR Premix (Ozyme, Montigny-le-Bretonneux, France), and assays were run on a StepOne Plus ABI real-time PCR machine (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Boston, USA). The expression of selected genes was normalized to that of the 36B4 housekeeping gene and then quantified using the comparative- $\Delta$ Ct method. The oligonucleotide sequences are shown in Star Methods section.*

### *Western Blot Analysis*

*Interscapular BAT was fine powdered in liquid nitrogen, lysed in lysis buffer followed by sonication as previously described<sup>55</sup>. After centrifugation performed at 14,000 RPM for 10 min, protein content was quantified with BCA kit. Equal amounts of total proteins, 10 to 30 µg, were separated by 10 or 12% SDS-PAGE gel electrophoresis and transferred onto the PVDF membrane. Following blocking, membranes were incubated with primary antibody overnight at 4°C (Star Methods section). Primary antibodies were detected with HRP-conjugated anti-rabbit or anti-mouse immunoglobulins (Promega, Charbonnières Les Bains, France). Chemiluminescence obtained after adding Immobilon Forte Western HRP substrate (Merck-Millipore, ST Quentin En Yvelines, France) was detected using an Amersham Imager 600. Loading control was performed with total coomassie staining or panactin content.*

### *Isolation and Analysis of DNA*

*Genomic and mitochondrial DNA were extracted from iBAT by the PureLink Genomic DNA kits (Invitrogen, Villebon Sur Yvette, France). Quantitative PCR was performed on 3 ng of total DNA using Cox1 primers for mitochondrial DNA and Ppia primers for nuclear DNA. Mitochondrial DNA was calculated as 2 $\Delta$ Ct of Cox1 with Ppia as housekeeping gene. The oligonucleotide sequences are shown in Star Methods section.*

### *Plasma analyses*

*Blood was collected in heparinized tubes via cardiac puncture. Plasmas were obtained after 10 min of centrifugation at 4000 rpm and stored at -80°C until further analyses. Adiponectin, leptin and FGF21*

levels were measured using Adiponectin (mouse) ELISA (Bertin Bioreagent, A05187), Leptin (mouse, rat) ELISA (Bertin Bioreagent, A05176) and Fibroblast Growth Factor 21 Mouse/Rat ELISA (Biovendor, RD291108200R) specific kits, respectively.

### Lipidomics

Quantification of oxylipins was performed at the METATOUL platform (MetaboHUB, Inserm UMR 1048, I2MC, Toulouse, France) by mass spectrometry analysis. All tissues (iBAT) were snap-frozen with liquid nitrogen immediately after collection, powdered in liquid nitrogen and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until extraction. Extraction and analysis were performed as previously described<sup>55,56</sup>

Fatty acid composition of brown adipose tissue triglycerides was determined by capillary gas chromatography. Tissue samples were homogenized in methanol/butylated hydroxy toluene (10 mg/L) and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis. Neutral lipids (corresponding to an equivalent of 20 mg tissue) were extracted following the Folch method using chloroform/methanol (2:1 vol/vol), in the presence of the internal standard glyceryl trinonadecanoate (Sigma-Aldrich). The extracts were filtered, and lipids recovered in the methanol-chloroform phase. TAG and PL were isolated using thin layer chromatography on silica glass plates (E. Merck, Darmstadt, Germany) developed in petroleum ether, ethyl ether, acetic acid (80:20:1) and visualized by fluorescein (2,7 – dichlorofluoresceine (Sigma) 0.2% in ethanol). The TAG and PL bands were scraped from the plate and transmethylated using 5% acetyl chloride/95 % methanol. The methylated fatty acids were extracted with isooctane and analyzed by gas chromatography using a gas chromatograph GC30 equipped with flame ionization detectors (Shimatzu), and CP-Wax 58 capillary column, 50 m in length, 0.25 mm external diameter, 0.2  $\mu\text{m}$  thickness of the stationary phase (Varian Inc., Les Ulis, France)). Helium was used as a carrier gas. Fatty acid methyl esters are identified by comparing the retention times to those of known standards.

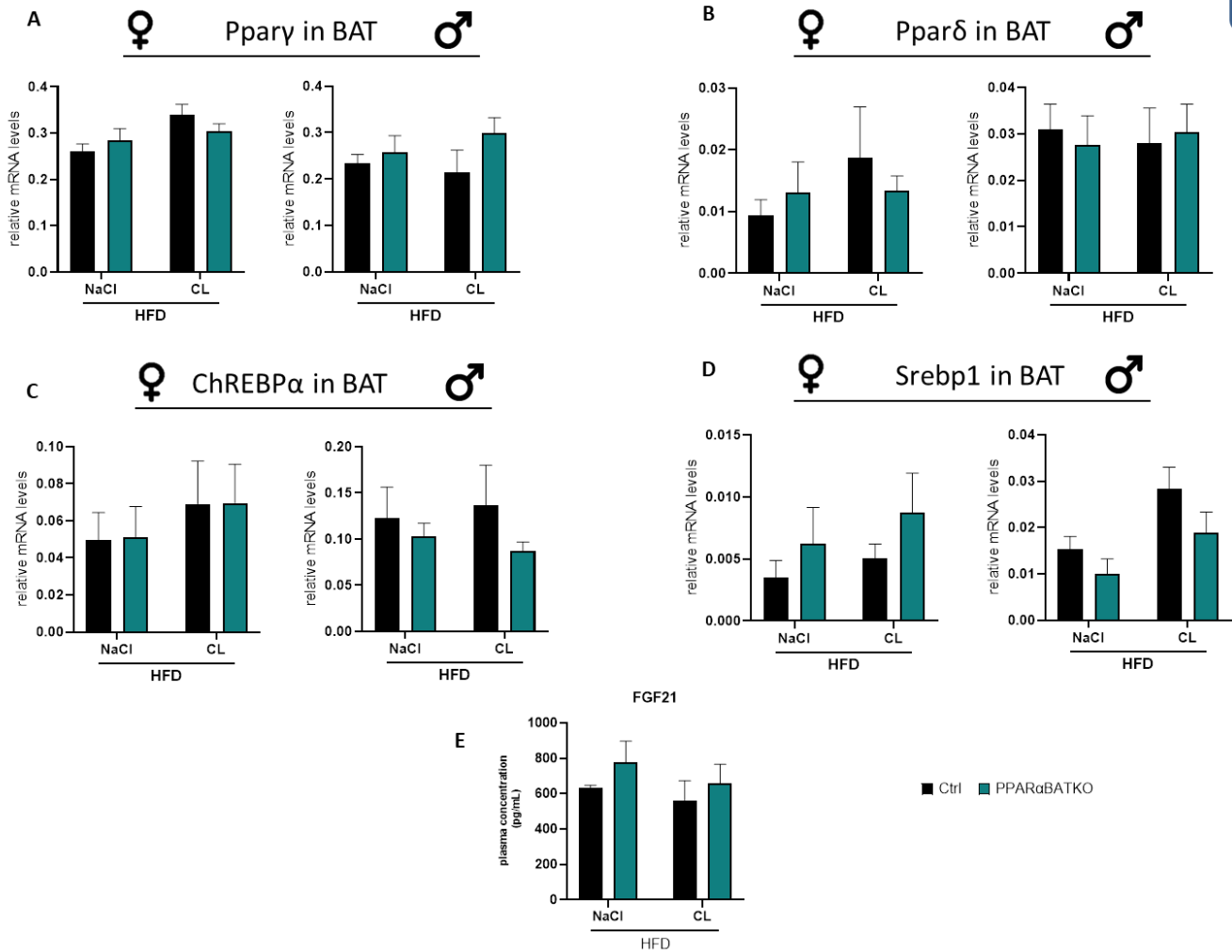
### Quantification and statistical analysis

Data are expressed as mean values  $\pm$  SEM and were analyzed using Prism 9.1.1 software (GraphPad Software). Shapiro–Wilk test was used to test distributions normality. For normally distributed variables, data were analyzed by two-way ANOVA followed by Šidák's post hoc test to assess statistical differences between experimental groups. Differences between two groups were analyzed using unpaired two-tailed Student's *t*-test. For non-normally distributed variables, data were analyzed by Mann-Whitney test. Differences were considered statistically significant with  $P < 0.05$ .

## Additional resources

Related to Figure 1, Figure 2 and Figure 5

S1



### Supplementary F1, related to Figure 1, 2 and 5

(A) Relative mRNA levels of Pparg in brown adipose tissue (BAT) of female and male adult mice fed a high fat diet (HFD) (n=5-6 per group).

(B) Relative mRNA levels of Ppar $\delta$  in BAT of female and male adult mice (n=5-6 per group).

(C) Relative mRNA levels of ChrebpA in BAT of female and male adult mice (n=3-6 per group).

(D) Relative mRNA levels of srebp1 in BAT of female and male adult mice (n=3-6 per group).

(E) Plasma level of FGF21 in female mice (n=4. per group).

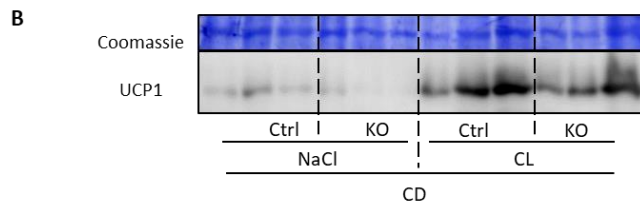
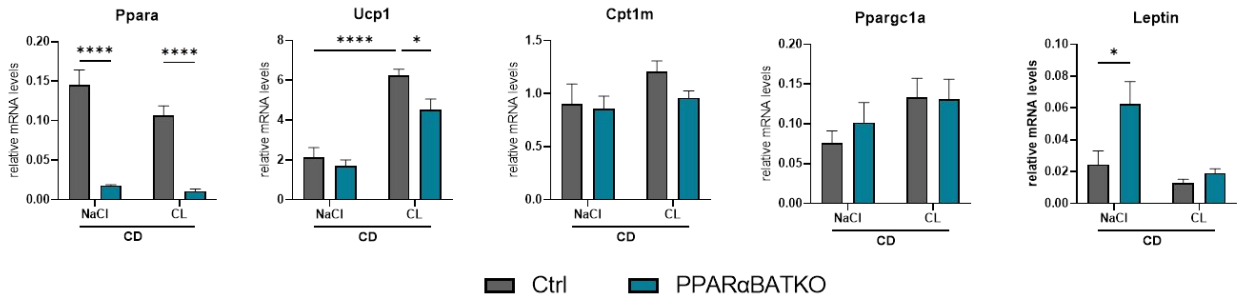
Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test. \*P < 0.05.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ -adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO : PPAR $\alpha$ BATKO mice.

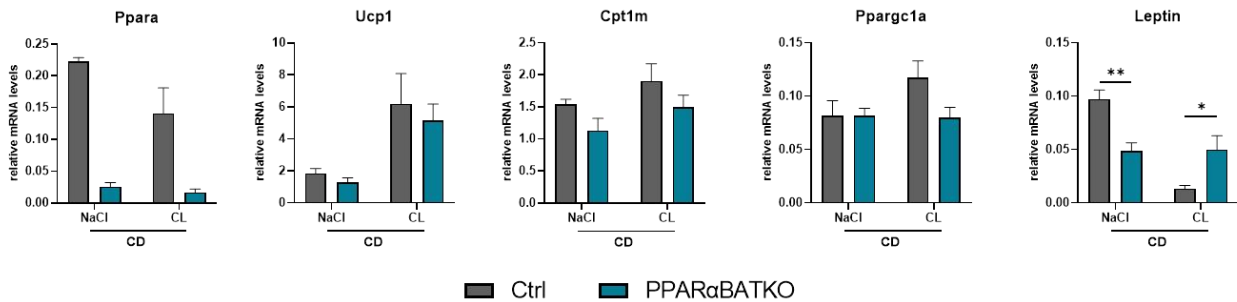


## Related to Figure 4

## A ♀ Chow Diet 30°C



## C ♂ Chow Diet 30°C



## Supplementary F2, related to Figure 4

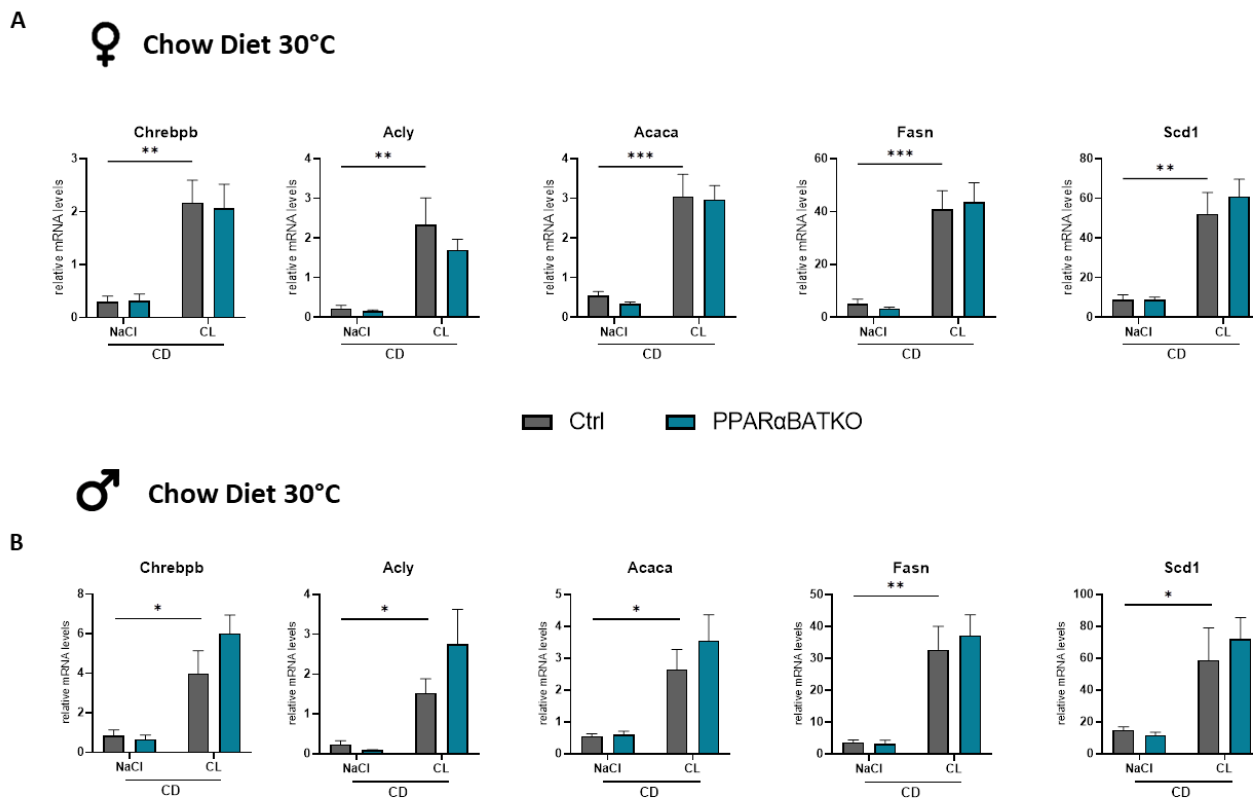
(A) Relative mRNA levels of Ppara, Ucp1, Cpt1m, Ppargc1a, Leptin in brown adipose tissue (BAT) of female adult mice fed a standard chow diet (n=5-6 per group).

(B) UCP1 protein content in BAT of female mice fed a standard chow diet.

(C) Relative mRNA levels of Ppara, Ucp1, Cpt1m, Ppargc1a, Leptin in BAT of male adult mice fed a standard chow diet (n=5-6 per group).

Data are displayed as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šidák's post hoc test. \*P < 0.05.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 ( $\beta$ 3-adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO: PPAR $\alpha$ BATKO mice, CD: chow diet.



**Supplementary F3, related to Figure 5**

(A, B) Relative mRNA levels of Chrebbp, Acly, Acaca, Fasn, Scd1 in BAT of female (A) or male (B) adult mice fed a standard chow diet (n=5-6 per group).

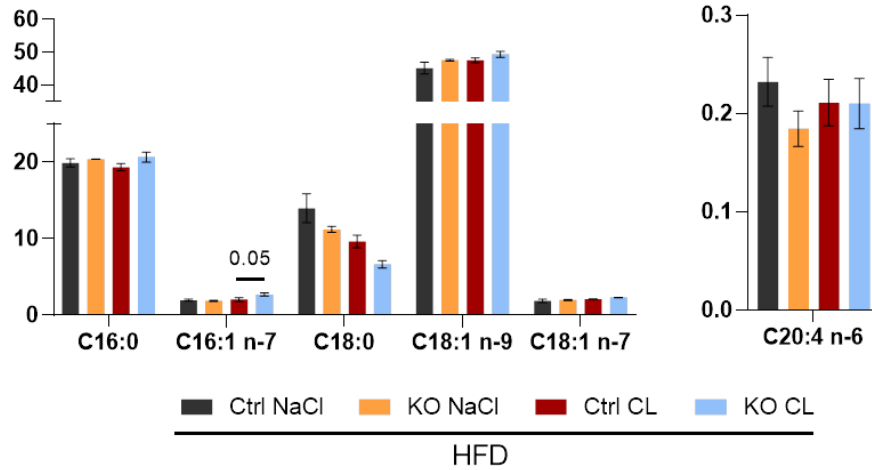
Data are displayed as mean ± SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šidák's post hoc test. \*P < 0.05; ns: non-significant.

NaCl: vehicle; CL: CL316,243 (β3-adrenergic agonist). Ctrl: control mice; KO : PPARαBATKO mice, CD: chow diet.

Related to Figure 5

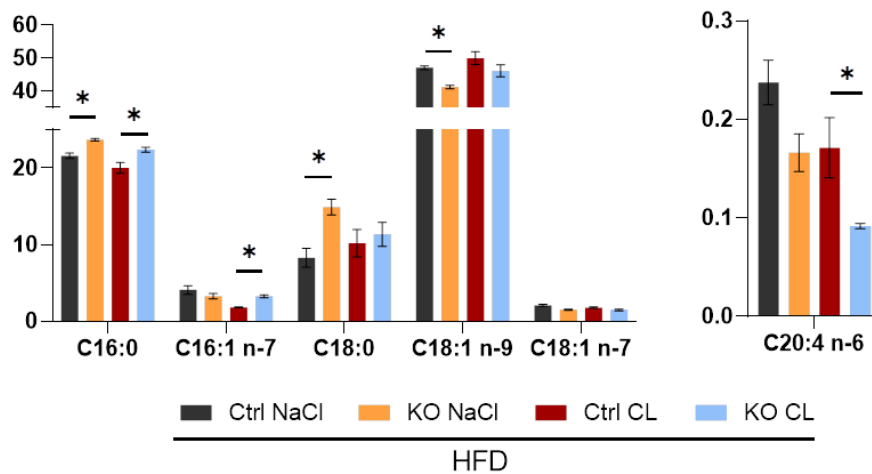
A

♀ BAT lysates: Fatty acid profile in TAG



B

♂ BAT lysates: Fatty acid profile in TAG



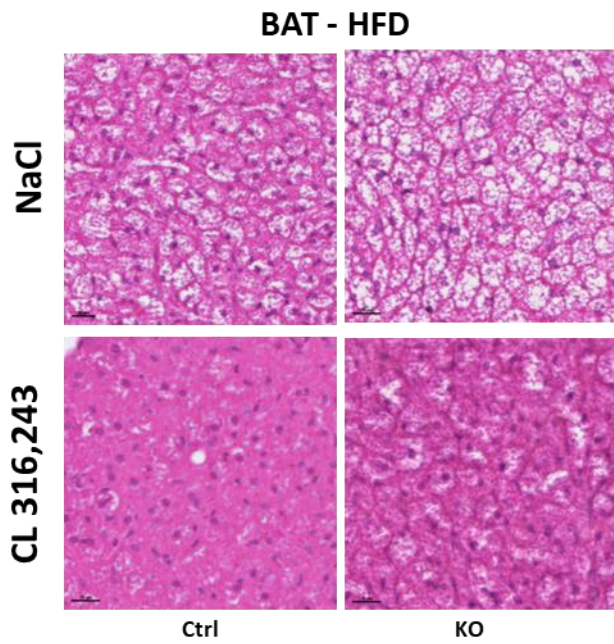
**Supplementary F4, related to Figure 5**

(A, B) Triglyceride fatty acid profile in BAT of female (A) and male (B) mice fed a HFD and challenged with CL316,243 (CL) or vehicle (NaCl) (n=4 per group).

Data are displayed as mean ± SEM. Statistical analysis was performed using 2-way ANOVA with Šídák's post hoc test. \*P < 0.05.

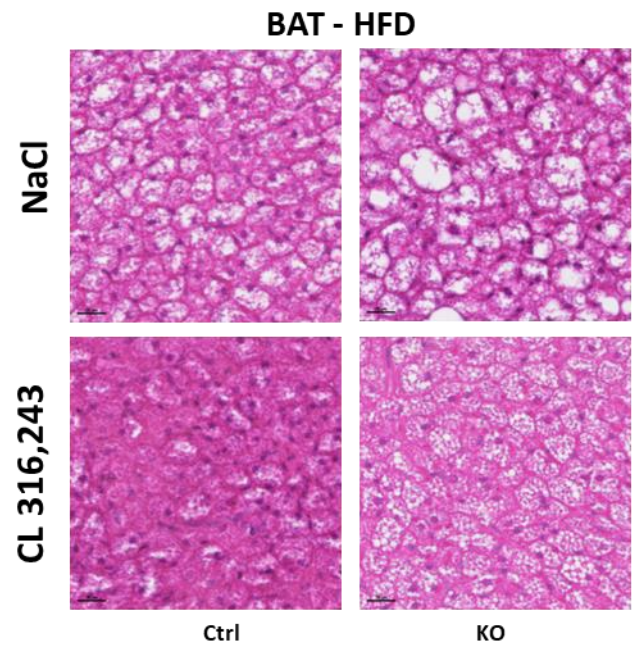
Ctrl: control mice; KO : PPAR $\alpha$ BATKO mice.

♀ 22°C



♂ 22°C

S5



**Supplementary F4, related to Figure 3**

(A, B) Representative H&E staining of BAT in female (A) and male (B) mice fed a HFD and housed at 22°C (scale=50µm).

## Discussion de l'article in vivo

Notre première étude in vitro a confirmé qu'il était encore à ce jour très difficile de cibler pharmacologiquement PPAR $\alpha$  dans le TA. Par ailleurs, plusieurs modèles de délétion de PPAR $\alpha$  indiquent que l'expression de cet isotype n'est pas nécessaire à la fonction thermogénique. Nos données, obtenues chez la souris délétée pour PPAR $\alpha$  dans le TA brun, confirment cette idée. En effet, chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO femelle uniquement, les niveaux d'UCP1 sont légèrement inférieurs au génotype contrôle. Cependant, cette différence n'est observée qu'après un traitement au CL316,243 et elle est totalement absente chez les souris mâles. Cette différence mâle/femelle pourrait être expliquée par le niveau basal d'UCP1 supérieur chez les femelles, ou encore par les niveaux d'hormones sexuelles. PPAR $\alpha$  n'est pas nécessaire pour le brunissement du TA blanc induit par le froid. Cependant, en l'absence de PPAR $\alpha$ , ce remodelage est tout de même inhibé lorsqu'il est induit par le CL316,243 (Barquissau et al., 2016). Il serait intéressant de voir si l'expression d'Ucp1 est également altérée chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO exposée au froid. En effet, la stimulation du TA thermogénique liée au CL316,243 et à l'exposition au froid ne modulent pas exactement l'expression des mêmes gènes. Le froid réduit notamment l'inflammation et la fibrose, la stimulation des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques modifie l'expression du nombre plus important de gènes (Li et al., 2021).

L'augmentation de la Lipogenèse de Novo est en revanche un phénotype observée à la fois chez les souris PPAR $\alpha$ BATKO mâles et femelles. La lipogenèse du TA brun a connu un regain d'intérêt ces dernières années. En effet, lorsque le tissu thermogénique est activé, le catabolisme lipidique est augmenté, mais c'est aussi le cas pour l'anabolisme lipidique. L'activation de la voie  $\beta$ 3-adrénergique mobilise très rapidement les réserves de triglycérides du TA blanc et du TA brun ce qui diminue le contenu en triglycérides ou le poids des dépôts de TA. En revanche, si la stimulation persiste, la lipogenèse est, elle aussi, activée mais uniquement dans le TA brun. Cela permet le retour à l'homéostasie lipidique tout en continuant de répondre à un fort besoin d'oxydation lipidique. Cette augmentation simultanée de la lipolyse et de la synthèse lipidique n'est réalisée qu'en situation où l'apport calorique correspond aux besoins. Lorsque la balance calorique est excédentaire, le TA brun acquiert progressivement des caractéristiques du TA blanc. Dans ces conditions, les gouttelettes lipidiques du TA brun perdent leur aspect multiloculaire. Ainsi, chez la souris maintenue en régime riche en graisse, la lipogenèse de novo n'est pas induite à la suite

d'une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique. Sous un régime riche en graisse, l'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun maintient l'augmentation de la lipogenèse de novo après un traitement aux agonistes des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques. En effet, dans ces conditions, l'expression de ChREBP $\beta$  mais pas de ChREBP $\alpha$  est augmentée et atteint même celle de souris nourries en régime contrôle et traitées au CL316,243. PPAR $\alpha$  pourrait ainsi être un senseur énergétique contrôlant l'homéostasie lipidique. Sans PPAR $\alpha$ , le blanchiment du TA brun et l'augmentation de son contenu en lipides n'est pas détecté, provoquant une levée de l'inhibition de la lipogenèse normalement induite par le régime riche en graisse. En conséquence, le contenu en triglycérides du TA brun des souris PPAR $\alpha$ BATKO traitées au CL316,243 est augmenté, non pas à cause d'un défaut de lipolyse mais bien en raison d'un excès de synthèse lipidique. Cette synthèse est réalisée par des enzymes comme ACC1 ou FASN qui sont aussi induites. Ces gènes sont des cibles de ChREBP $\beta$  tout comme ACLY qui permet la synthèse de l'acétyl-CoA, précurseur de la synthèse des AG, à partir du citrate provenant de la mitochondrie. La synthèse des AG saturés à 16 et 18 carbones est donc augmentée. Mais les AG monoinsaturés issus des C16 et C18 le sont aussi puisque l'expression de SCD1 est également induite. Notons aussi que l'expression d'ACC1 est augmentée contrairement à celle d'ACC2. ACC1 est cytoplasmique alors qu'ACC2 est exprimé au niveau de la matrice mitochondriale. Cette dernière produit du malonyl-CoA qui inhibe la carnitine palmitoyltransférase 1 (CPT1), l'enzyme clé dans le transport des acides gras dans les mitochondries pour la  $\beta$ -oxydation. Ainsi, ACC2 régule la dégradation des acides gras. Le malonyl-CoA produit au niveau cytoplasmique par ACC1 sert pour la biosynthèse des AG. Ainsi, la délétion de PPAR $\alpha$  semble impacter l'anabolisme plutôt que le catabolisme lipidique. Par ailleurs, l'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun ne modifie pas significativement l'expression de marqueurs de la lipolyse.

Nous avons par la suite réalisé des analyses lipidomiques pour comprendre comment les différents types de lipides étaient affectés par les changements d'expressions des acteurs de la lipogenèse de novo. Ces analyses biochimiques ont confirmé les données obtenues au niveau de l'ARNm et de la protéine. Elles sont aussi en accord avec l'analyse histologique du TA brun et des poids de ce dépôt. Le contenu total en AG des TG des souris PPAR $\alpha$ BATKO stimulées par un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques est supérieur à celui des souris contrôles dans les mêmes conditions. Plus précisément, les profils d'AG des TG ont révélé une augmentation de la proportion de l'acide palmitique et de l'acide palmitoléique. Il a été

montré que le traitement à l'acide palmitoléique inhibe l'expression d'UCP1 induite par l'isoprotérénol (Iwase et al., 2020). L'effet de l'acide palmitoléique sur UCP1 est également retrouvé lorsque l'expression de la glycérol kinase (GK) est inhibée. Or, dans le TA brun des souris PPAR $\alpha$ BATKO traitées au CL316,243, on retrouve l'augmentation de SCD1 et de l'acide palmitoléique, associée à la diminution des niveaux de glycérol kinase et d'UCP1 chez les femelles. Il a été montré par ailleurs que la glycérol kinase est régulé dans le TA brun par PPAR $\gamma$  pour moduler l'expression d'UCP1 dans ce tissu (Lasar et al., 2018). La glycérol kinase est impliquée dans la réestérification des AG libres issus de la lipolyse. Elle permet le resynthèse des TG dans un processus thermogénique dit futile. Ici, en l'absence de PPAR $\alpha$ , la synthèse des AG participant à la formation des TG est augmentée tandis que leur mobilisation lors de la lipolyse n'est pas modifiée et que leur recyclage est diminué, perturbant l'homéostasie lipidique de ce tissu. Chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO femelle nourrie en régime riche en graisse et traitée au CL316,243, l'expression de PGC1 $\alpha$  dans le TA brun est également diminuée. Or, il a été montré que PPAR $\alpha$  interagissait avec PGC1 $\alpha$  pour induire la GK dans le TA blanc (Mazzucotelli et al., 2007).

Ces dernières années, la lipogenèse du TA brun a connu un regain d'intérêt. Plusieurs études ont cherché à identifier le rôle des deux isoformes de ChREBP dans ce tissu. Bien que l'expression de ChREBP $\beta$  augmente lors d'une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique, cette isoforme ne semble pas nécessaire à la thermogénèse basale. En effet, sa délétion dans tout le TA ne modifie pas les niveaux protéiques d'UCP1 ou des chaînes respiratoires à thermoneutralité. De plus, la morphologie des dépôts de TA ou bien l'homéostasie glucidique restent normales (Langin et al., 2022). En revanche, la surexpression de ChREBP $\beta$  spécifiquement dans le TA brun provoque l'apparition de phénotypes assez similaires à ceux obtenues dans notre étude (Wei et al., 2020). Ces souris présentent une augmentation de la lipogenèse de novo, des changements morphologiques dans le TA brun avec une augmentation des dépôts lipidiques, associés à une réduction de l'expression des marqueurs thermogéniques, du contenu mitochondrial ainsi qu'une intolérance au froid.

La dérégulation de la lipogenèse de novo chez les souris délétées pour PPAR $\alpha$  dans le TA brun remodèle également le contenu lipidique des phospholipides de ce tissu. Là encore, les proportions d'acide palmitoléique au sein des phospholipides des souris PPAR $\alpha$ BATKO nourries en régime riche en graisse et traitées au CL316,243 est augmentée. Chez ces souris,

on retrouve aussi une proportion plus importante d'acide oléique des phospholipides du TA brun, en accord avec l'augmentation des niveaux de SCD1. Enfin, les pourcentages molaires d'acide arachidonique (ARA) sont diminués dans les phospholipides des souris PPAR $\alpha$ BATKO nourries en régime riche en graisse et traitées au CL316,243. L'ARA est un précurseur important pour la biosynthèse de nombreux médiateurs lipidiques bioactifs, tels que les prostaglandines, les thromboxanes et les leucotriènes. Nous avons donc quantifié nombre de ces lipides bioactifs pour explorer la régulation cellulaire médiée par PPAR $\alpha$  dans le TA brun.

Parmi les oxylipines dosées, on retrouve de nombreuses espèces dont la concentration augmente avec la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique. Elles peuvent être dérivées de l'ARA, de l'acide linoléique, de l'EPA ou encore du DHA. En revanche, chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO stimulée, les niveaux d'oxylipines dérivés de l'ARA et produits par la voie des cyclooxygénases sont augmentés par la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique mais dans une moindre mesure que chez les souris contrôles. Parmi elles, la prostaglandine E2 (PGE2) et la prostacycline (PGI2), (dosée indirectement via son métabolite 6-keto-prostaglandin F1 $\alpha$ ), influencent la thermogénèse et la fonction métabolique du TA brun en modulant la signalisation et l'activation des adipocytes bruns. Par ailleurs, la prostaglandine D2 (PGD2) stimule la prolifération des préadipocytes beiges (Abe et al., 2023).

En l'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun de souris sous régime riche en graisse, l'augmentation de la lipogénèse à la suite de la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique est associée à une augmentation des niveaux d'AKT2 dans ce tissu. AKT2 est une kinase décrite comme étant activée par le froid et régulant la lipogénèse du TA brun. Elle est habituellement inhibée par un régime riche en graisse ce qui n'est pas le cas chez les souris PPAR $\alpha$ BATKO traitées au CL316,243 pour lesquelles les niveaux d'AKT2 sont maintenus élevés. AKT2 est un acteur majeur de la voie de signalisation de l'insuline. Dans le TA brun, l'activation d'AKT2 par l'insuline stimule le transport du glucose en augmentant la translocation des transporteurs de glucose (GLUT4) à la membrane cellulaire. Aucun effet sur la glycémie basale ou la tolérance au glucose n'a été observée chez les souris délétées pour PPAR $\alpha$  dans le TA brun. Cependant, ces paramètres ont été mesurés avant le début des injections d'agonistes des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques. Il serait pertinent de mesurer ces données après cette stimulation pour savoir si l'accumulation de lipides liée à l'augmentation de la



lipogénèse chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO se fait au profit d'une meilleure homéostasie glucidique. Un traçage métabolique du glucose pourrait également fournir de plus amples informations sur l'origine des AG nouvellement synthétisés chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO, et vérifier si d'autres intermédiaires de la synthèse des AG sont modifiés, comme ceux du cycle de Krebs par exemple.

Les conséquences de la délétion de PPAR $\alpha$  dans le TA brun sont aussi visibles au niveau morphologique. En accord avec les modifications d'expression génique, le TA brun des souris PPAR $\alpha$ BATKO nourries en régime riche en graisse et traitées avec un agoniste des récepteurs  $\beta$ 3-adrénérgiques présentent des adipocytes contenant de plus grosses gouttelettes lipidiques. Étonnamment, même après les injections avec le véhicule, la taille des gouttelettes lipidiques est plus importante chez les souris PPAR $\alpha$ BATKO que chez les souris contrôles, alors même que nos analyses n'ont révélées que très peu de changements dans ces conditions. Cela pourrait suggérer l'existence d'autres voies métaboliques modulées par l'absence de PPAR $\alpha$  que nous n'avons pas explorée. Les conséquences de l'absence de PPAR $\alpha$  au sein du TA brun pourraient être différentes selon l'activité lipolytique. Par ailleurs, les changements histologiques sont accompagnés d'un certain remodelage fibrotique du TA brun. En effet, la coloration Picro-Sirius est plus importante chez les souris PPAR $\alpha$ BATKO, surtout chez les femelles traitées au CL316,243. En revanche, l'analyse de l'expression génique ne confirme pas une synthèse accrue de collagène. Il serait cependant pertinent de chercher à identifier ces collagènes caractéristiques d'un remodelage pathologique du TA au niveau protéique. La fibrose du TA blanc durant l'obésité est bien documentée tout comme son rôle dans l'inflammation, l'inflexibilité métabolique ou encore l'insulino-résistance. Au contraire, la fibrose du TA brun est peu étudiée. Elle semble tout de même être un frein à la plasticité et la thermogénèse au sein de ce tissu.

L'absence de PPAR $\alpha$  dans le TA brun semble aussi modifier la dynamique mitochondriale. Chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO nourrie en régime riche en graisse et traitée au CL316,243, la quantité d'ADN mitochondrial est plus faible que chez la souris contrôle. De même pour les niveaux de la protéine DRP1. Il s'agit d'une protéine mitochondriale fortement exprimée dans le TA brun et associée au brunissement du TA blanc. Le régime riche en graisse induit une diminution de l'expression de DRP1 dans le TA. La perte de fonction de DRP1 entraîne des formes mitochondriales anormalement géantes, une structure membranaire

mitochondriale altérée et une architecture des crêtes perturbée. Aussi, elle induit la rétention de gouttelettes lipidiques naissantes dans le RE, entraînant une perturbation de la dynamique globale des lipides (Li et al., 2024). Chez les souris contrôles, son expression est d'ailleurs fortement induite par le traitement aux agonistes  $\beta$ 3-adrénergiques, alors qu'elle est réduite chez les souris PPAR $\alpha$ BATKO. Dans le TA, sous stimulation  $\beta$ -adrénergique, DRP1 facilite le bourgeonnement des gouttelettes lipidiques à partir du réticulum endoplasmique, et donc, la formation de nouvelles gouttelettes lipidiques cytosoliques. La fission joue un rôle important dans l'élimination des mitochondries endommagées par autophagie (Youle and van der Bliek, 2012). Dans le TA brun, une dynamique mitochondriale flexible est cruciale pour s'adapter aux variations des besoins thermogéniques. DRP1, en régulant la fission mitochondriale, permet au TA brun de maintenir une population mitochondriale saine et fonctionnelle, optimisée pour la production de chaleur. Nos données sont également cohérentes avec le fait que les souris délétées pour DRP1 dans le TA présentent plus d'adipocytes de plus grande taille et forment moins de structures multiloculaires lors de l'exposition au froid. Aussi, dans les adipocytes hMADS, la conversion vers un phénotype thermogénique est associée à une activation de la protéine DRP1 (Pisani et al., 2018). Une analyse plus poussée des mitochondries, notamment par microscopie électronique, aurait été pertinente. En effet, la souris délétée pour ChREBP possède de petites mitochondries, avec de nombreuses crêtes mitochondriales et des niveaux augmentés d'UCP1 (Sakiyama et al., 2021).

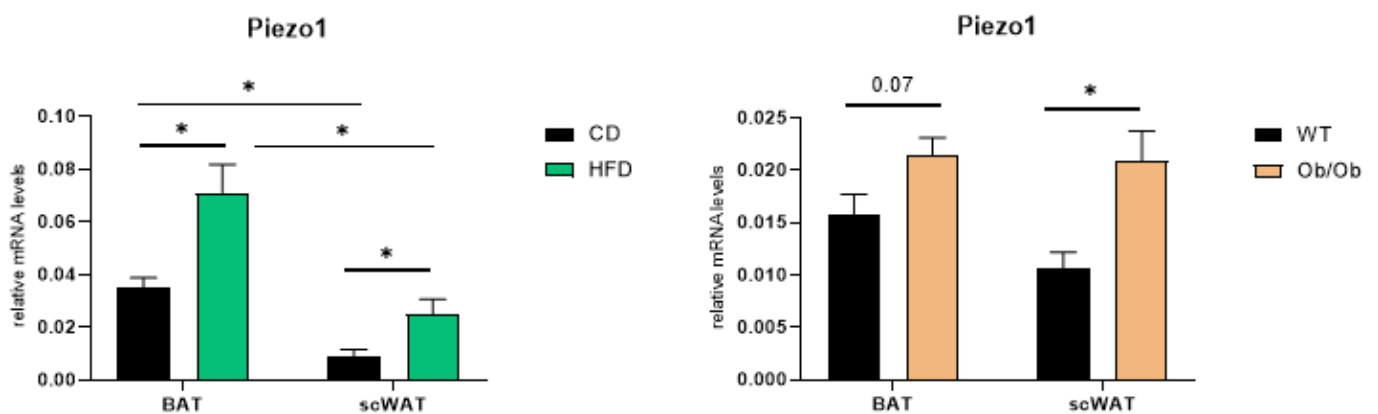
Alors que la plupart des études réalisées jusqu'à présent décrivent que PPAR $\alpha$  est plutôt impliqué dans l'oxydation des lipides, nos données montrent clairement que PPAR $\alpha$  régule la lipogenèse de novo du TA brun. Cette régulation négative semble être levée en son absence ce qui permet d'induire la synthèse lipidique en réponse à une stimulation  $\beta$ 3-adrénergique, même lorsque ce n'est pas nécessaire. En conséquence, la morphologie du TA brun, le contenu en AG, la dynamique mitochondriale s'en retrouvent perturbés. La dérégulation de la lipogenèse affecte également la capacité de synthèse de lipides bioactifs impliqués dans l'activation et le recrutement d'adipocytes thermogéniques. PPAR $\alpha$  au sein du TA brun semble donc être un senseur énergétique impliqué dans l'homéostasie glucido-lipidique. On pourrait se demander quels seraient le phénotype de la souris PPAR $\alpha$ BATKO nourrie en régime riche en glucides et traitées aux agonistes des récepteurs  $\beta$ 3-adrénergiques. En effet, ChREBP est d'abord un senseur de glucides, glucose ou fructose notamment. Très

récemment, une étude a montré l'importance de ChREBP $\beta$  dans le TA brun dans d'autres situations nutritionnelles. La souris délétée spécifiquement pour ChREBP $\beta$  et nourrie en régime riche en glucides voit la morphologie de son TA brun modifiée. La taille de ces gouttelettes lipidiques est réduite en raison de la diminution de l'expression d'Acly, Acc, Fasn, Scd1, Elovl6. De plus, l'expression des enzymes de la glycolyse est diminuée, tout comme celle des gènes de la voie des pentoses phosphate qui est une voie métabolique alternative de l'oxydation du glucose. Aussi, la souris délétée pour ChREBP $\beta$  dans le TA brun nourrie en régime cétoène voit l'inflammation de ce tissu réduite par rapport à la souris contrôle alors que l'expression des gènes de la thermogénèse et de la phosphorylation oxydative est augmentée. Ces changements d'expression génique pourraient contribuer au remodelage du TA brun. En effet, en régime cétoène, la souris délétée pour ChREBP $\beta$  dans le TA brun présente également une taille de gouttelettes lipidiques réduite (Baek et al., 2024).

Au vu de notre première étude *in vitro* sur le pémafibrate, on pourrait envisager un traitement au pémafibrate chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO. Comme les niveaux de PPAR $\alpha$  dans le foie ne sont pas modifiés chez cette souris et que les niveaux circulants de FGF21 sont normaux, les effets du pémafibrate sur l'adipocyte pourrait, en théorie être maintenus. Par ailleurs, nos données obtenues *in vivo* m'ont amené à explorer la lipogénèse *in vitro* dans les adipocytes hMADS. Bien que la délétion de PPAR $\alpha$  dans les adipocytes beiges induits par la rosiglitazone augmente l'expression d'UCP1, l'expression des gènes de la lipogénèse de novo n'est pas modifiée. Ce résultat n'est pas étonnant puisqu'*in vivo* chez la souris PPAR $\alpha$ BATKO, la synthèse lipidique n'est augmentée qu'en réponse à la double stimulation nutritionnelle et  $\beta$ 3-adrénergique. Il faudrait ainsi reproduire cette double stimulation métabolique *in vitro* dans les adipocytes hMADS ce qui est envisageable mais difficile à réaliser. L'environnement du régime riche en graisse peut être approché par l'ajout d'AG saturés dans le milieu de culture. Le traitement au CL316,243 peut être effectué sur les adipocytes hMADS mais leur réponse est bien plus faible que celle d'adipocytes murins.

# Résultats complémentaires

Mon travail de thèse a permis d'affiner les connaissances sur le rôle de PPAR $\alpha$  dans le TA thermogénique humain et murin. J'ai également travaillé sur l'implication de la protéine Piezo1 dans l'activité thermogénique. Ce canal est fortement exprimé dans le TA, légèrement plus dans le TA brun que le TA blanc. Dans les cellules hMADS, son expression augmente avec la différenciation adipocytaire. Le remodelage du TA module également l'expression de Piezo1. En effet, aussi bien dans le TA brun que le TA blanc, le régime riche en graisse induit une augmentation des niveaux de Piezo1 (**Figure 44**). De même, l'induction génétique de l'obésité chez la souris Ob/Ob augmente aussi l'expression de Piezo1 dans le TA. Ces deux modèles d'obésité sont associés à un profond remodelage du TA, notamment une augmentation de la taille des adipocytes et un blanchiment du TA brun. On peut alors émettre l'hypothèse que Piezo1 détecte et intègre ce remodelage pour induire la transduction de ce signal dans l'adipocyte.

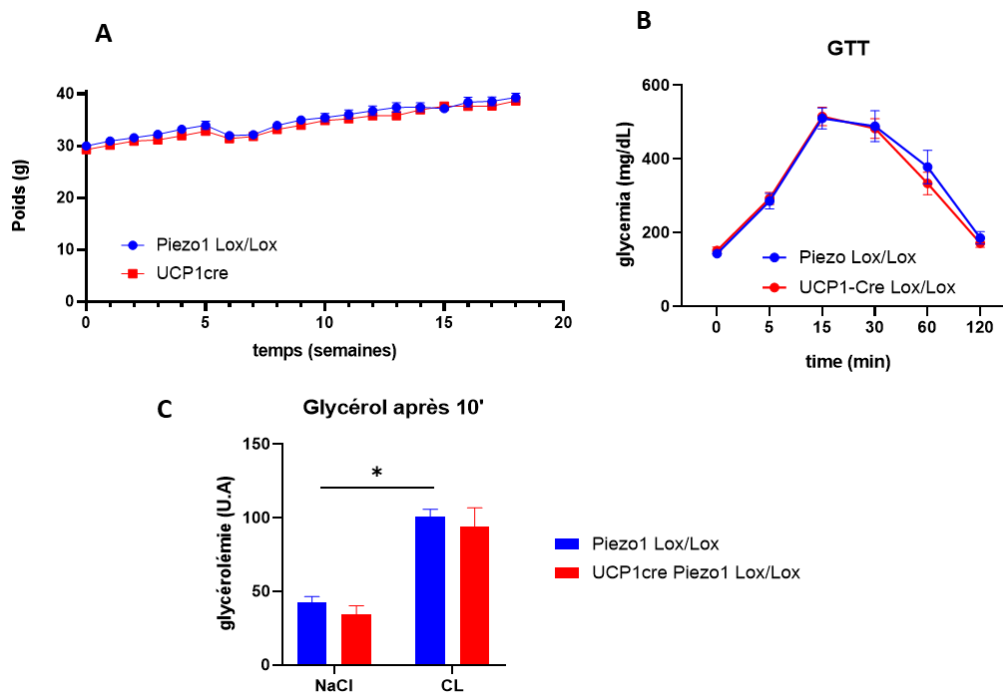


**Figure 44: Expression de Piezo1 dans le tissu adipeux dans deux modèles d'obésités**

Les niveaux d'expression de Piezo1 ont été quantifiés par RT-qPCR. Dans le TA, aussi bien blanc sous-cutané (scWAT) que brun (BAT), ils sont augmentés dans deux modèles d'obésités (régime riche en graisse (colonnes vertes) ou délétion du récepteur à la leptine colonnes beiges) par rapport aux souris contrôles. N=4-7 par groupe, \* :  $P < 0.05$ , 2-way ANOVA et Šídák's post hoc test.

Ainsi, nous avons par la suite étudié l'influence de l'absence de la transduction du signal médié par Piezo1 sur le TA thermogénique grâce à la souris mâle de fond génétique C57Bl/6J délétée spécifiquement pour Piezo1 dans les adipocytes bruns (Ucp1CRE-Piezo1lox/lox ou Piezo1BATKO). La prise de poids en régime standard est similaire chez les souris Piezo1BATKO et contrôles maintenus à thermoneutralité (**Figure 45A**). De même, l'absence de Piezo1 dans le TA brun ne n'altère pas la tolérance au glucose (**Figure 45B**), contrairement à son absence dans tout le TA (Zhao et al., 2019; Wang et al., 2020).

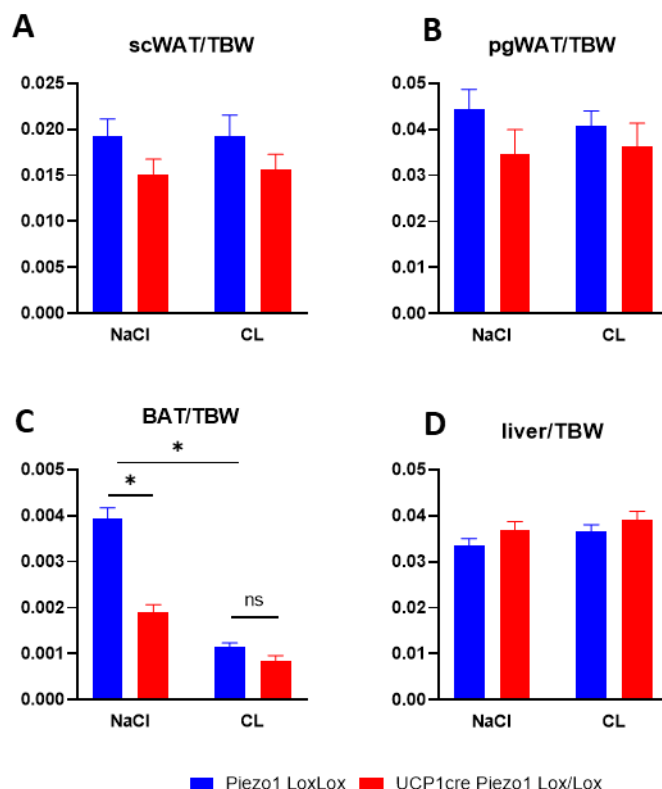
Pour analyser la fonction thermogénique chez la souris Piezo1BATKO, la moitié des animaux de chaque groupe a reçu quotidiennement pendant la dernière semaine d'hébergement une injection d'agonistes des récepteurs  $\beta$ 3-adrénrgiques (CL316,243). L'autre moitié étant traitée au véhicule (NaCl). L'absence de Piezo1 dans le TA brun n'affecte pas la fonction lipolytique mesurée grâce à la glycérolémie 10 minutes après la première injection de CL316,243 (**Figure 45C**).



**Figure 45: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur la prise de poids, la tolérance au glucose et la lipolyse**

Courbes de poids de souris mâles Piezo1BATKO (rouges) et contrôles (bleu) maintenues en régime standard à thermoneutralité pendant 20 semaines (n=12 par groupe)(A), Test de tolérance au glucose de souris mâles Piezo1BATKO et contrôles maintenues en régime standard à thermoneutralité (n=8 par groupe) (B), Glycérolémie sanguine de souris mâles Piezo1BATKO et contrôles maintenues en régime standard à thermoneutralité 10 minutes après une injection de CL316,243 à 0,5mg/kg ou de véhicule NaCl (n=6 par groupe) (C). ). \* : P < 0.05, 2-way ANOVA et Šídák's post hoc test.

Le poids des dépôts de TA blanc, sous-cutané et épидидymaire, sont similaires chez la souris Piezo1BATKO et les contrôles, quel que soit le traitement (**Figure 46**). Il en est de même pour le poids du foie. En revanche, le poids du TA brun interscapulaire est significativement réduit en l'absence de Piezo1 dans ce tissu, mais uniquement lorsque celui-ci n'est pas stimulé.

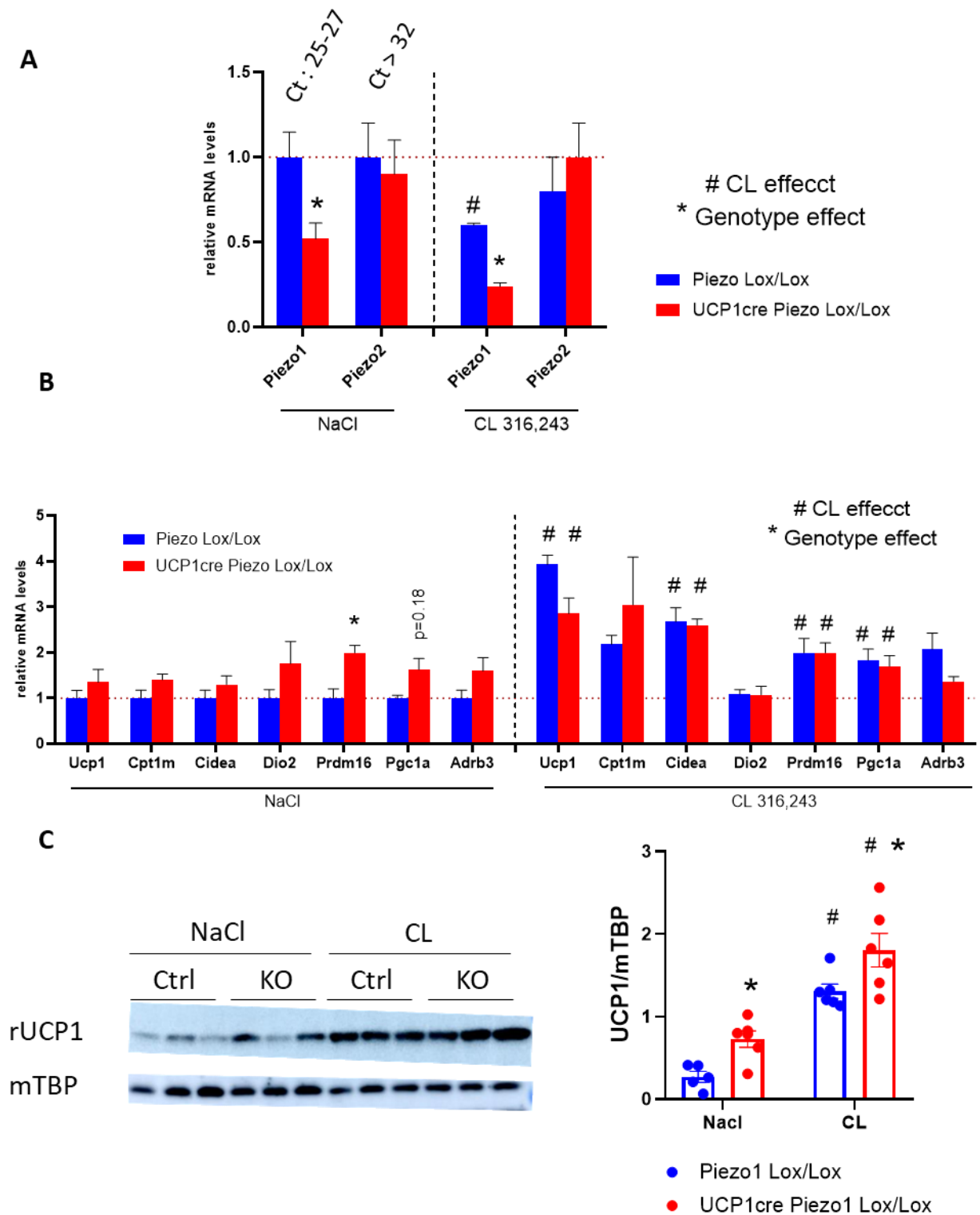


**Figure 46: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur les poids relatifs de TA et du foie**

Poids relatifs de tissus de de souris mâles Piezo1BATKO (rouge) et contrôles (bleu) maintenues en régime standard à thermoneutralité pendant 20 semaines puis traités quotidiennement ou non avec 0,5mg/kg de CL316,243 (n=6 par groupe). Tissu adipeux blanc sous-cutané inguinal (A), Tissu adipeux blanc périgonadique (B), Tissu adipeux brun (C), Foie (D). \* : P < 0.05, 2-way ANOVA et Šídák's post hoc test

L'analyse de l'expression génique indique que chez les souris Piezo1BATKO, seul l'expression de Piezo1 est réduite et uniquement dans le TA brun (**Figure 47A**). L'inhibition relativement faible (de l'ordre de 50%), peut être expliquée par le fait que Piezo1 est assez exprimé dans les cellules de la FSV. En revanche, l'expression de Piezo2 est beaucoup plus réduite. Au sein du TA brun, l'expression de plusieurs marqueurs thermogéniques tend à être supérieure chez la souris Piezo1BATKO traitée au NaCl (**Figure 47B**). C'est le cas notamment pour PGC1 $\alpha$ , Dio2, Prdm16. Pour ce dernier, la différence est même statistiquement significative.

En revanche, suite à la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique, les inductions au niveau de l'ARNm, des marqueurs thermogéniques sont similaires dans les deux génotypes. L'analyse des niveaux protéiques d'UCP1 dans le TA brun indique cependant que cette protéine est plus exprimée chez la souris Piezo1BATKO traitée au NaCl ou au CL316,243 (**Figure 47C**). L'absence de Piezo1 dans le TA brun augmente les niveaux d'UCP1 dans ce tissu.

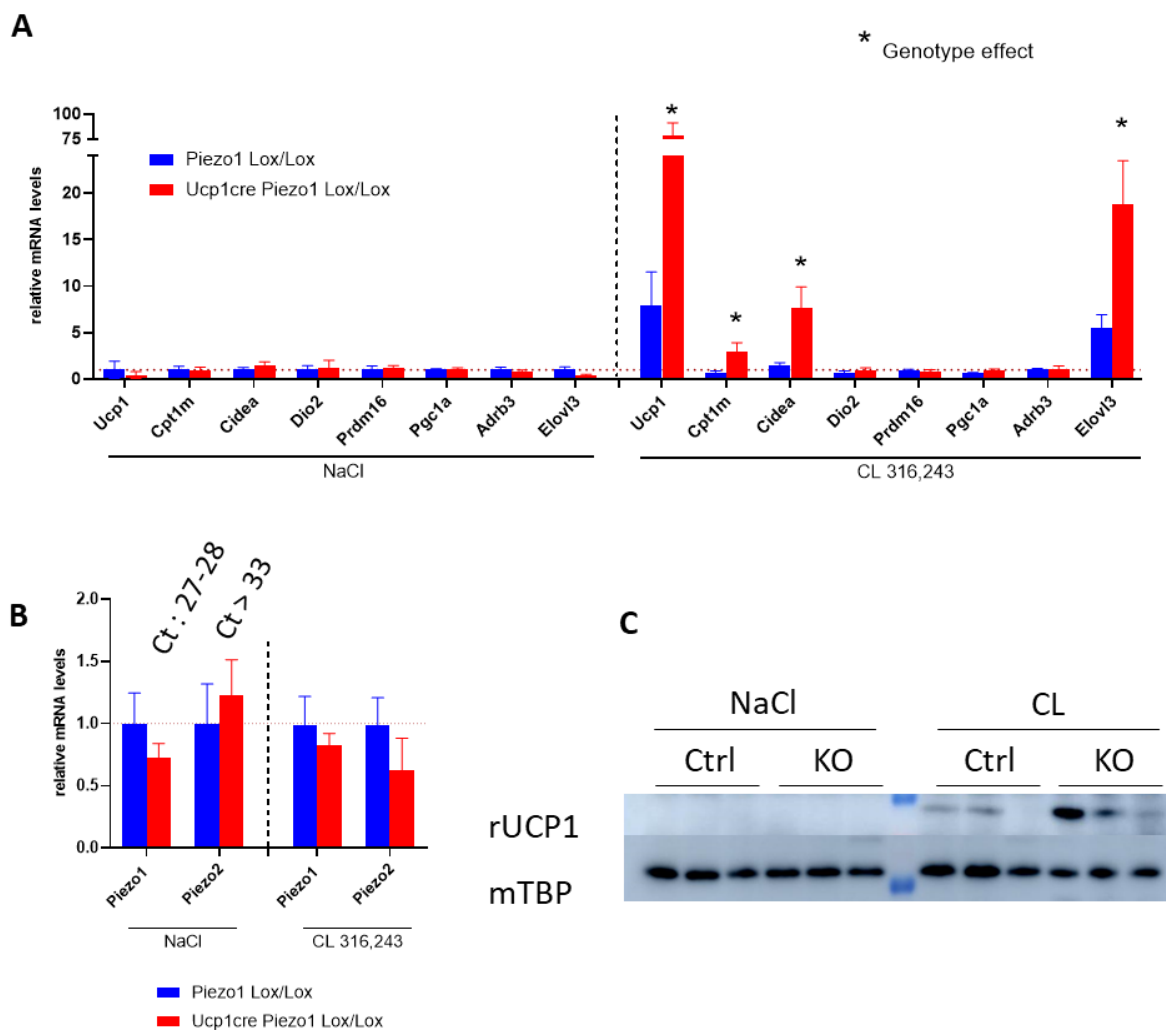


**Figure 47: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur l'expression de marqueurs thermogéniques dans ce tissu**

Niveaux relatifs d'ARNm dans le tissu adipeux brun de de souris mâles Piezo1BATKO (rouge) et contrôles (bleu) maintenues en régime standard à thermoneutralité puis traités quotidiennement ou non avec 0,5mg/kg de CL316,243, Piezo1 et Piezo2 (A), marqueurs thermogéniques (B). Niveaux relatifs d'UCP1 correspondants (C) (n=6 par groupe). \* : P < 0.05 vs Génotype Contrôle, # : P < 0.05 vs NaCl, 2-way ANOVA et Šídák's post hoc test.



L'analyse de l'expression génique révèle également que l'absence de Piezo1 dans le TA brun peut affecter la capacité thermogénique du TA blanc. Aucune différence d'expression concernant les marqueurs associés à la thermogenèse n'est observée entre les deux génotypes traités au NaCl. Cependant, dans le TA sous-cutané des souris Piezo1BATKO traitées au CL316,243, l'expression de plusieurs marqueurs associés à la thermogenèse est plus importante que chez les souris contrôles (**Figure 48A**). C'est le cas pour Ucp1, Cidea, Cpt1m et Elovl3. La plus grande induction d'UCP1 se confirme au niveau protéique (**Figure 48C**). Or les niveaux de Piezo1 ne sont pas du tout modifiés dans le TA blanc (**Figure 48B**). Ainsi, il semblerait que ce brunissement soit une conséquence de la délétion de Piezo1 dans le TA brun. Cependant, l'induction d'Ucp1 par la stimulation  $\beta$ 3-adrénergique est très variables selon les animaux. Il serait pertinent de confirmer cette observation sur d'autres cohortes. On peut alors envisager un dialogue entre ces deux types de dépôts par des médiateurs lipidiques ou protéiques. La délétion de Piezo1 dans le TA brun pourrait induire la sécrétion de BATokines favorisant l'activation des adipocytes thermogéniques. Notons par exemple que lorsque Piezo1 est délété dans tout le TA, il a été montré que les adipocytes présentaient un défaut de sécrétion de FGF1, inhibant par la suite la différenciation adipocytaire (Wang et al., 2020).

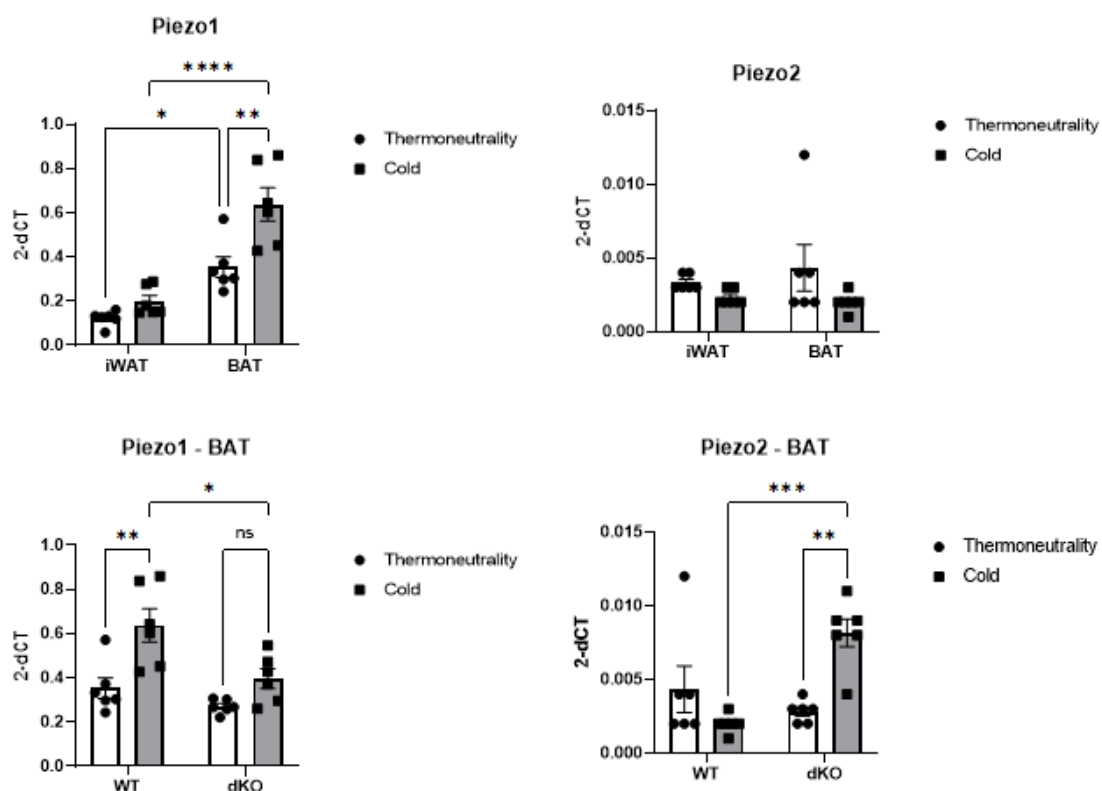


**Figure 48: Effets de la délétion de Piezo1 dans le TA brun sur l'expression de marqueurs thermogéniques dans le TA blanc sous-cutané**

Niveaux relatifs d'ARNm dans le tissu adipeux blanc sous-cutané inguinal de de souris mâles Piezo1BATKO (rouge) et contrôles (bleu) maintenues en régime standard à thermoneutralité puis traités quotidiennement ou non avec 0,5mg/kg de CL316,243, marqueurs thermogéniques (A), Piezo1 et Piezo2 (B). Niveaux relatifs d'UCP1 correspondants (C) (n=6 par groupe). \* :  $P < 0.05$ , vs génotype contrôle, 2-way ANOVA et Šídák's post hoc test.

En parallèle de ces analyses in vivo chez la souris, j'ai également exploré le rôle de Piezo1 dans les cellules hMADS différenciés en adipocytes blancs et beiges. L'inhibition de l'expression de Piezo1 par des siRNA au jour 10 de notre protocole de culture (**Figure 37**), soit juste avant la conversion thermogénique semble être cohérente avec les résultats obtenus chez la souris. En effet, son inhibition augmente légèrement les niveaux d'UCP1. Ces observations restent cependant à confirmées. Par ailleurs, l'activation pharmacologique de Piezo1 par Yoda1 inhibe drastiquement les niveaux d'UCP1.

Même si la fonction lipolytique n'est pas modifiée chez la souris Piezo1BATKO, il se pourrait qu'elle régule le rôle de Piezo1. Grâce à des collaborations avec l'Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires (I2MC) à Toulouse, nous avons pu obtenir des données chez des souris exposées au froid. Une telle stimulation induit la lipolyse mais aussi l'augmentation de l'expression de Piezo1 mais uniquement dans le TA brun (**Figure 49**). Piezo2 n'est, en revanche, pas régulé par l'exposition au froid. Par ailleurs, l'augmentation d'expression de Piezo1 dans le TA brun est perdue chez la souris présentant un défaut de lipolyse, la souris délétée à la fois pour ATGL et HSL (dKO). Au contraire, chez la souris double KO, Piezo2 est induit par l'exposition au froid. Il pourrait s'agir d'un mécanisme de compensation. L'analyse de données de RNAseq issu de la littérature confirme que l'expression de Piezo1 est augmentée de façon transitoire avec l'exposition au froid avant de retrouver son niveau précédent la stimulation après un retour à la thermoneutralité (Lundgren et al., 2023).



**Figure 49: Régulation de l'expression de Piezo1 dans le TA brun par le froid et la lipolyse**

Niveaux relatifs d'ARNm de Piezo1 et Piezo2 dans le tissu adipeux brun et inguinal de souris délétées pour ATGL et HSL (dKO) ou contrôles, à thermoneutralité ou exposées au froid. \* < 0.05, 2-way ANOVA et Šidák's post hoc test.

L'étude du rôle de Piezo1 dans la fonction thermogénique est en étroite collaboration avec d'autres laboratoires de recherche niçois, le Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M) et l'Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (IPMC). Les données présentées dans ce manuscrit permettront d'orienter la suite de recherches à mener, en se focalisant notamment sur la régulation de Piezo1 par la lipolyse. Quels sont les mécanismes expliquant l'augmentation de l'expression de Piezo1 par le froid. Les produits de la lipolyse permettent-ils de stabiliser le canal Piezo1 à la membrane ? Son activité est-elle augmentée en conséquence ? En effet, l'ouverture du canal Piezo1 permet principalement le passage de calcium et le flux calciques sont impliqués dans la régulation de l'activité thermogénique (Ikeda et Yamada, 2022 ; Oflaz et al., 2023).

Aussi, l'inactivation de Piezo1 spécifiquement dans le TA brun semble indiquer que ce canal est un régulateur négatif de la thermogénèse médiée par UCP1. Or, l'expression de Piezo1 est aussi augmentée dans deux modèles d'obésités induites, situations dans lesquelles l'activité thermogénique est réduite. Chez la souris, l'obésité induit une diminution de l'activité thermogénique parfois associée à une augmentation des niveaux d'UCP1. Ainsi, une étude plus poussée des autres fonctions du TA comme la lipogenèse, la sécrétion pourra permettre de mieux comprendre le rôle de Piezo1 dans le TA thermogénique.

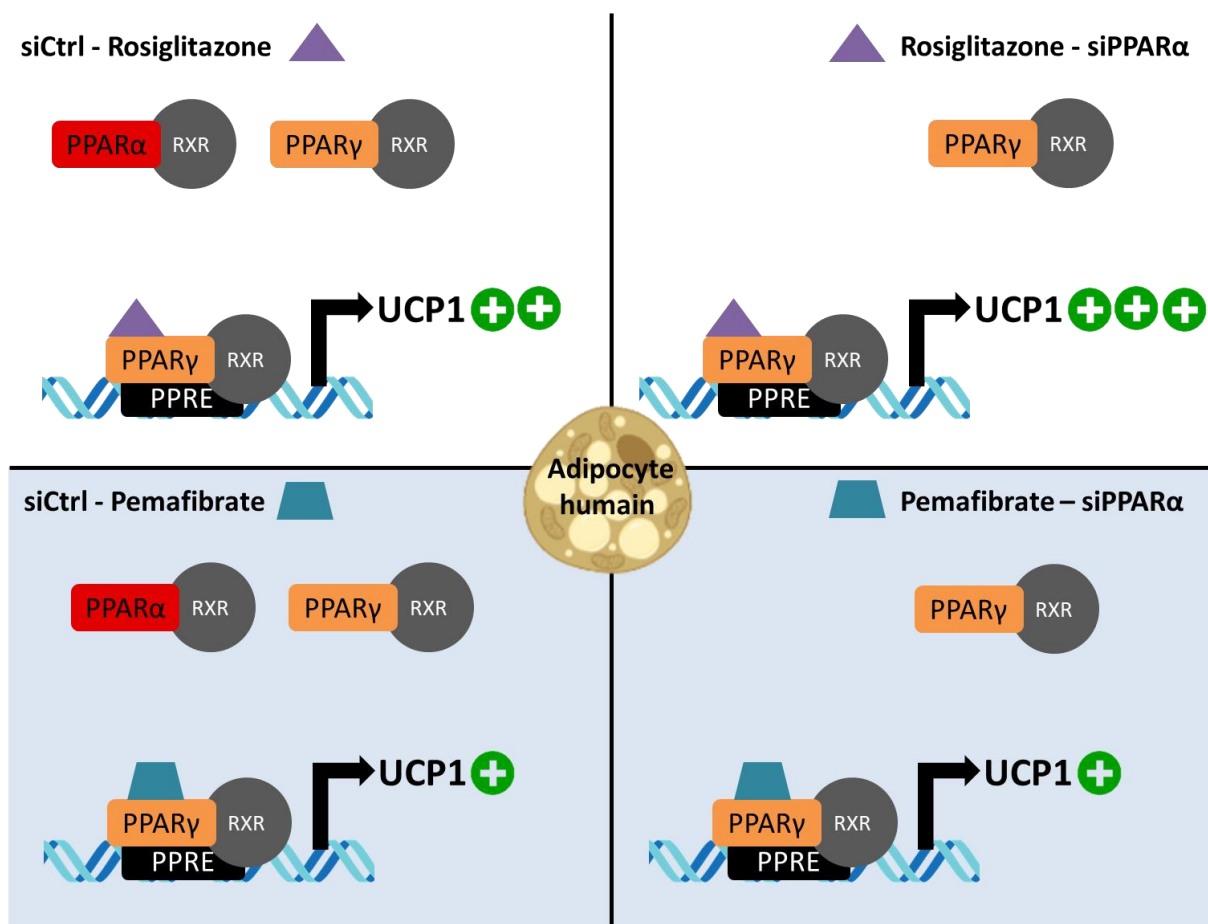
# Conclusion et perspectives

Le TA brun est bien connu pour son rôle dans la thermogénèse. Cet organe a pourtant bien d'autres fonctions importantes au-delà de la production de chaleur. Les adipocytes thermogéniques possèdent une plasticité métabolique incroyable leur permettant d'utiliser de nombreux substrats. Le TA brun contribue à la régulation du métabolisme lipidique en oxydant les acides gras, réduisant ainsi les niveaux de lipides circulants et améliorant la santé métabolique. Ces lipides proviennent majoritairement de la lipolyse du TA blanc mais aussi de celle du TA brun ou encore des acylcarnitines du foie. Ils peuvent aussi être directement synthétisés à partir de glucose. Ainsi, le TA brun capte le glucose circulant pour son métabolisme, aidant à réguler les niveaux de glucose sanguin et à améliorer la sensibilité à l'insuline. Il s'agit donc d'un véritable siphon métabolique, dont l'intérêt va bien au-delà de l'augmentation de la dépense énergétique.

Les PPARs sont des facteurs de transcriptions impliqués dans le métabolisme du TA. Il est établi que PPAR $\gamma$  est l'isotype primordial dans le métabolisme du TA thermogénique. Il induit l'expression d'UCP1, participe donc à l'oxydation des AG mais il favorise aussi l'anabolisme lipidique comme en témoigne l'induction de la glycérol kinase par la rosiglitazone. Ce recyclage lipidique permet d'optimiser les quantités d'AG à oxyder. Ces AG peuvent également être directement synthétisés.

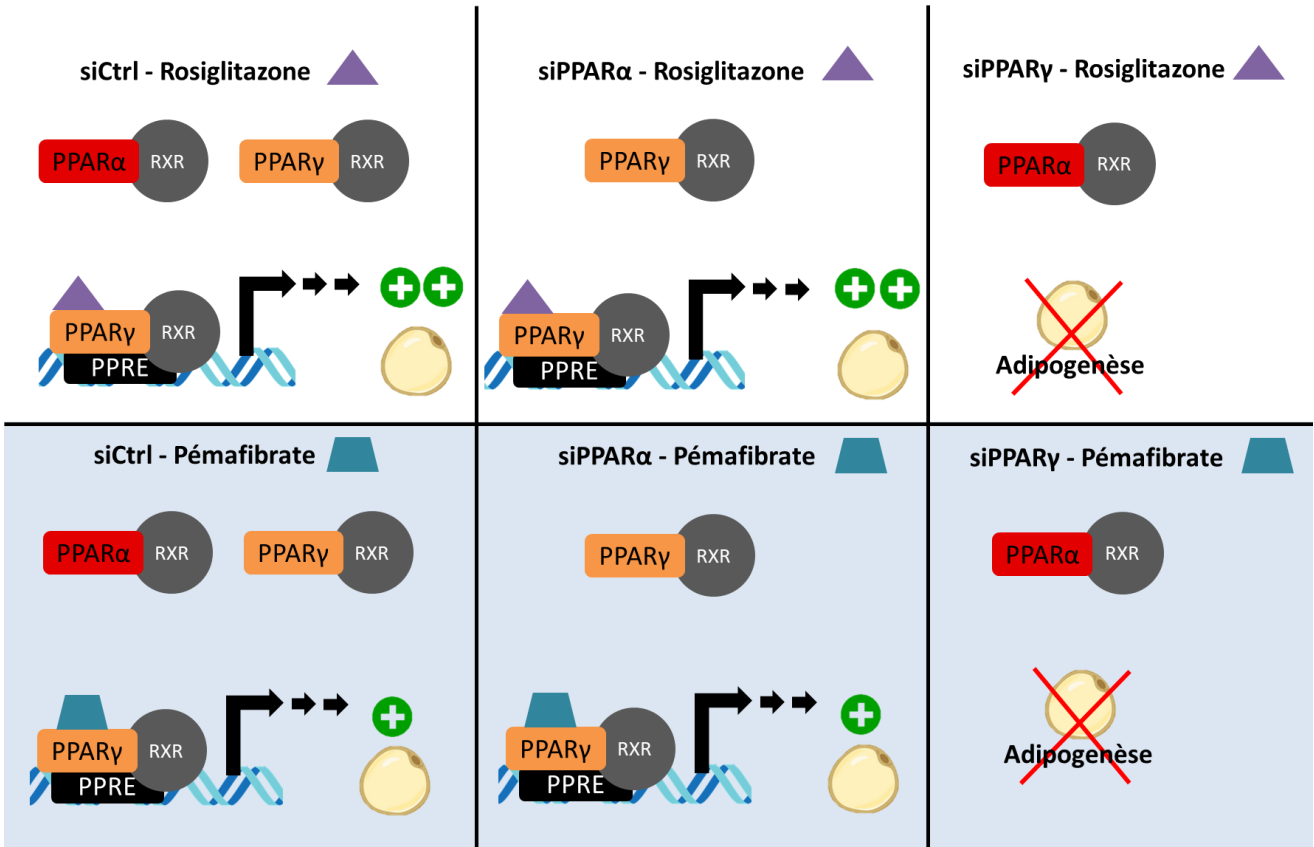
Durant mon travail, nous avons montré que PPAR $\alpha$  était un régulateur de la lipogénèse de novo dans le TA brun de souris. Ce rôle, n'avait, jusqu'à présent, pas été décrit. Nous avons choisi de maintenir les souris à thermoneutralité et en régime riche en graisse, puis de stimuler leur TA thermogénique. Ce protocole a permis de mettre en évidence un nouveau rôle pour PPAR $\alpha$  au-delà de la thermogénèse. Le rôle de PPAR $\alpha$  était jusqu'à présent étudié dans un contexte d'oxydation lipidique. Nous avons ainsi mis en évidence l'importance d'étudier le métabolisme du TA brun dans sa globalité, en étudiant son métabolisme glucido-lipidique. Il serait intéressant maintenant pertinent d'étudier PPAR $\alpha$  chez l'homme pour voir si l'on retrouve son implication dans le contrôle de la lipogénèse de novo dans le TA brun humain. Existe-t-il des mutations de PPAR $\alpha$  chez l'homme participant au blanchiment du TA brun ? Peut-on activer pharmacologiquement PPAR $\alpha$  pour limiter la lipogénèse du TA brun ainsi que son blanchiment pendant l'obésité ?

Cependant, l'étude *in vitro* a encore souligné la difficulté de cibler spécifiquement un isotype des PPARs dans un contexte physiologique où les trois sont exprimés. De plus, nous avons affiné les connaissances sur un des derniers agonistes de PPAR $\alpha$ , le pémafibrate. Celui-ci induit des effets directs sur l'adipocyte en activant PPAR $\gamma$ . Contrairement à ce qui est décrit dans la littérature, le pémafibrate est en fait un dual agoniste de PPAR $\alpha/\gamma$ . Comme cette molécule est déjà utilisée en clinique, on pourrait essayer de vérifier si l'on retrouve cette double activation en clinique associé à une augmentations de l'expression d'UCP1.



**Figure 50: Schéma récapitulatif des résultats obtenus *in vitro* sur le brunissement des adipocytes hMADS**

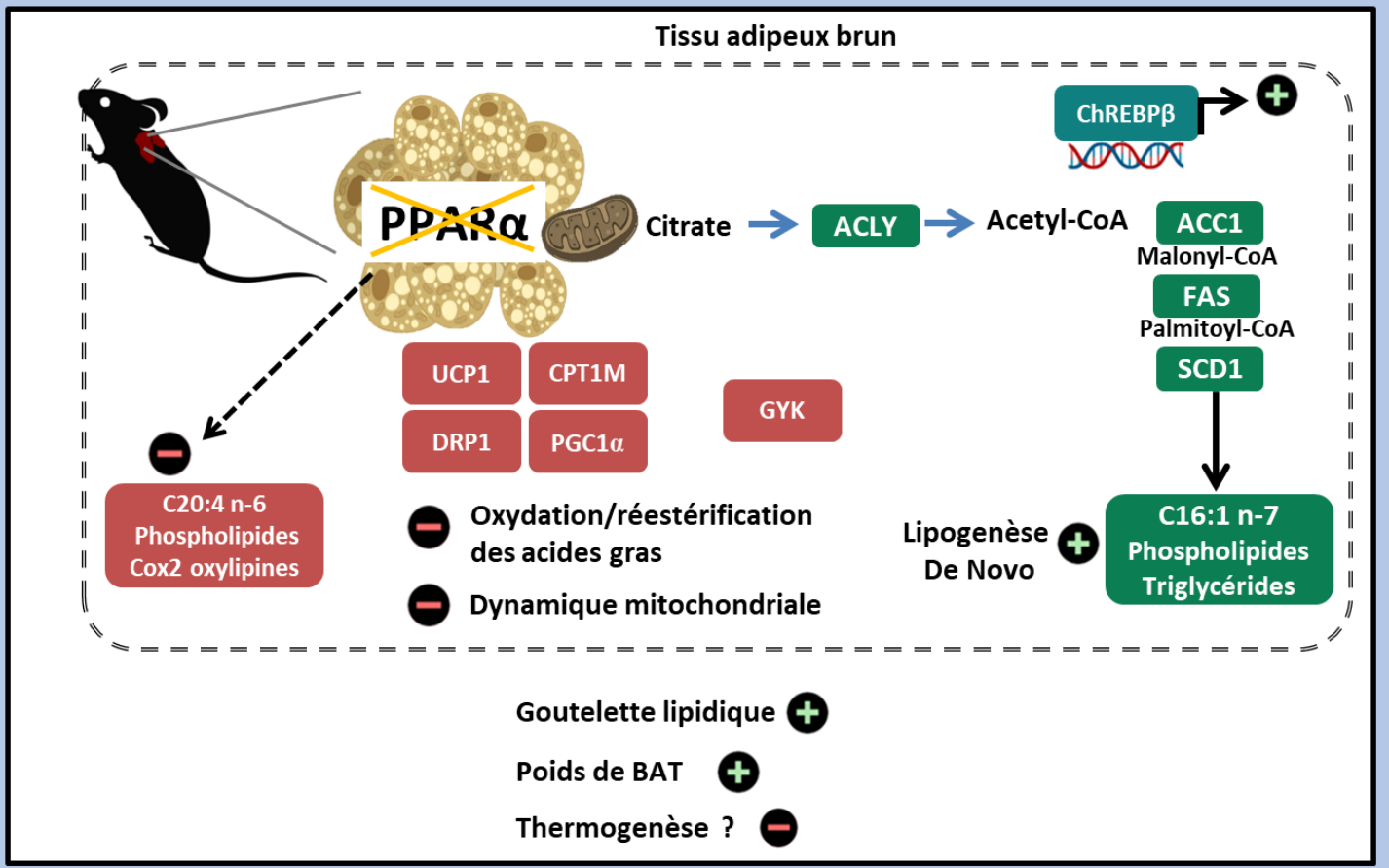
PPAR $\alpha$  est un régulateur négatif de l'induction d'UCP1 médiée par PPAR $\gamma$ . Dans un contexte adipocytaire, le pémafibrate est en réalité un agoniste de PPAR $\gamma$ .



**Figure 51 : Schéma récapitulatif des résultats obtenus in vitro sur l'adipogenèse des cellules hMADS**

Dans un contexte adipocytaire, le pémafibrate est en réalité un agoniste de PPAR $\gamma$  pour l'adipogenèse.

Sous régime riche en graisse et traitée au CL316,243



**Figure 512 : Schéma récapitulatif des résultats obtenus in vivo chez la souris**

Chez la souris nourrie en régime riche en graisse et traitée avec un agoniste des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, la délétion de PPAR $\alpha$  dans le TA brun induit fortement la Lipogenèse De Novo dépendante de ChREBP $\beta$ , affectant le contenu en acides gras des triglycérides et des phospholipides ainsi que la dynamique mitochondriale.



# Bibliographie

- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., Adams, R. J., Aekplakorn, W., Afsana, K., Aguilar-Salinas, C. A., Agyemang, C., Ahmadvand, A., Ahrens, W., Ajlouni, K., Akhtaeva, N., Al-Hazzaa, H. M., Al-Othman, A. R., Al-Raddadi, R., Al Buhairan, F., ... Ezzati, M. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016 : A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627-2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
- Abe, I., Oguri, Y., Verkerke, A. R. P., Monteiro, L. B., Knuth, C. M., Auger, C., Qiu, Y., Westcott, G. P., Cinti, S., Shinoda, K., Jeschke, M. G., & Kajimura, S. (2022). Lipolysis-derived linoleic acid drives beige fat progenitor cell proliferation. *Developmental Cell*, 57(23), 2623-2637.e8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.11.007>
- Abu-Odeh, M., Zhang, Y., Reilly, S. M., Ebadat, N., Keinan, O., Valentine, J. M., Hafezi-Bakhtiari, M., Ashayer, H., Mamoun, L., Zhou, X., Zhang, J., Yu, R. T., Dai, Y., Liddle, C., Downes, M., Evans, R. M., Kliewer, S. A., Mangelsdorf, D. J., & Saltiel, A. R. (2021). FGF21 promotes thermogenic gene expression as an autocrine factor in adipocytes. *Cell Reports*, 35(13), 109331. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109331>
- Accili, D., & Taylor, S. I. (1991). Targeted inactivation of the insulin receptor gene in mouse 3T3-L1 fibroblasts via homologous recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(11), 4708-4712. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.11.4708>
- Acosta, J. R., Douagi, I., Andersson, D. P., Bäckdahl, J., Rydén, M., Arner, P., & Laurencikiene, J. (2016). Increased fat cell size : A major phenotype of subcutaneous white adipose tissue in non-obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 59(3), 560-570. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3810-6>
- Aherne, W., & Hull, D. (1966). Brown adipose tissue and heat production in the newborn infant. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 91(1), 223-234. <https://doi.org/10.1002/path.1700910126>
- Ahmadian, M., Abbott, M. J., Tang, T., Hudak, C. S. S., Kim, Y., Bruss, M., Hellerstein, M. K., Lee, H.-Y., Samuel, V. T., Shulman, G. I., Wang, Y., Duncan, R. E., Kang, C., & Sul, H. S. (2011). Desnutrin/ATGL is regulated by AMPK and is required for a brown adipose phenotype. *Cell Metabolism*, 13(6), 739-748. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.05.002>
- Albert, J. S., Yerges-Armstrong, L. M., Horenstein, R. B., Pollin, T. I., Sreenivasan, U. T., Chai, S., Blaner, W. S., Snitker, S., O'Connell, J. R., Gong, D.-W., Breyer, R. J., Ryan, A. S., McLenithan, J. C., Shuldiner, A. R., Sztalryd, C., & Damcott, C. M. (2014). Null mutation in hormone-sensitive lipase gene and risk of type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 370(24), 2307-2315. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1315496>
- Alessi, M. C., Bastelica, D., Morange, P., Berthet, B., Leduc, I., Verdier, M., Geel, O., & Juhan-Vague, I. (2000). Plasminogen activator inhibitor 1, transforming growth factor-beta1, and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity. *Diabetes*, 49(8), 1374-1380. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.8.1374>
- Alvarez-Guardia, D., Palomer, X., Coll, T., Serrano, L., Rodríguez-Calvo, R., Davidson, M. M., Merlos, M., El Kochairi, I., Michalik, L., Wahli, W., & Vázquez-Carrera, M. (2011). PPAR  $\beta$  /  $\delta$  activation blocks lipid-induced inflammatory pathways in mouse heart and human cardiac cells. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1811(2), 59-67. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2010.11.002>

- Amano, S. U., Cohen, J. L., Vangala, P., Tencerova, M., Nicoloso, S. M., Yawe, J. C., Shen, Y., Czech, M. P., & Aouadi, M. (2014). Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metabolism*, *19*(1), 162-171. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.11.017>
- Ameika, M., Markan, K. R., Morgan, D. A., BonDurant, L. D., Idiga, S. O., Naber, M. C., Zhu, Z., Zingman, L. V., Grobe, J. L., Rahmouni, K., & Potthoff, M. J. (2019). Liver derived fgf21 maintains core body temperature during acute cold exposure. *Scientific Reports*, *9*(1), 630. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37198-y>
- Anvari, G., Struss, M., & Bellas, E. (2024). *Simulated microgravity enhances adipocyte maturation and glucose uptake via increased cortical actin remodeling.* <https://doi.org/10.1101/2024.01.30.578049>
- Aquila, H., Link, T. A., & Klingenberg, M. (1985). The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *The EMBO Journal*, *4*(9), 2369-2376. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1985.tb03941.x>
- Arai, H., Yamashita, S., Yokote, K., Araki, E., Suganami, H., Ishibashi, S., & K-877 Study Group. (2017). Efficacy and safety of K-877, a novel selective peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  modulator (Spparm $\alpha$ ), in combination with statin treatment : Two randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trials in patients with dyslipidaemia. *Atherosclerosis*, *261*, 144-152. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.03.032>
- Araki, E., Yamashita, S., Arai, H., Yokote, K., Satoh, J., Inoguchi, T., Nakamura, J., Maegawa, H., Yoshioka, N., Tanizawa, Y., Watada, H., Suganami, H., & Ishibashi, S. (2018). Effects of pemafibrate, a novel selective ppar $\alpha$  modulator, on lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes and hypertriglyceridemia : A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes Care*, *41*(3), 538-546. <https://doi.org/10.2337/dc17-1589>
- Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *257*(1), 79-83. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0255>
- Arnold, S. V., Inzucchi, S. E., Echouffo-Tcheugui, J. B., Tang, F., Lam, C. S. P., Sperling, L. S., & Kosiborod, M. (2019). Understanding contemporary use of thiazolidinediones. *Circulation Heart Failure*, *12*(6), e005855. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005855>
- Arsenijevic, D., Onuma, H., Pecqueur, C., Raimbault, S., Manning, B. S., Miroux, B., Couplan, E., Alves-Guerra, M. C., Goubern, M., Surwit, R., Bouillaud, F., Richard, D., Collins, S., & Ricquier, D. (2000). Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nature Genetics*, *26*(4), 435-439. <https://doi.org/10.1038/82565>
- Aryal, B., Singh, A. K., Zhang, X., Varela, L., Rotllan, N., Goedeke, L., Chaube, B., Camporez, J.-P., Vatner, D. F., Horvath, T. L., Shulman, G. I., Suárez, Y., & Fernández-Hernando, C. (2018). Absence of ANGPTL4 in adipose tissue improves glucose tolerance and attenuates atherogenesis. *JCI Insight*, *3*(6), e97918, 97918. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.97918>
- Bachman, E. S., Dhillon, H., Zhang, C.-Y., Cinti, S., Bianco, A. C., Kobilka, B. K., & Lowell, B. B. (2002). Betaar signaling required for diet-induced thermogenesis and obesity resistance. *Science (New York, N.Y.)*, *297*(5582), 843-845. <https://doi.org/10.1126/science.1073160>
- Baer, P. C. (2014). Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells : An update on their phenotype in vivo and in vitro. *World Journal of Stem Cells*, *6*(3), 256-265.

<https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i3.256>

- Banks, A. S., McAllister, F. E., Camporez, J. P. G., Zushin, P.-J. H., Jurczak, M. J., Laznik-Bogoslavski, D., Shulman, G. I., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2015). An ERK/Cdk5 axis controls the diabetogenic actions of PPAR $\gamma$ . *Nature*, *517*(7534), 391-395. <https://doi.org/10.1038/nature13887>
- Barak, Y., Nelson, M. C., Ong, E. S., Jones, Y. Z., Ruiz-Lozano, P., Chien, K. R., Koder, A., & Evans, R. M. (1999). PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Molecular Cell*, *4*(4), 585-595. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80209-9](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80209-9)
- Barbatelli, G., Murano, I., Madsen, L., Hao, Q., Jimenez, M., Kristiansen, K., Giacobino, J. P., De Matteis, R., & Cinti, S. (2010). The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *298*(6), E1244-1253. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00600.2009>
- Barquissau, V., Beuzelin, D., Pisani, D. F., Beranger, G. E., Mairal, A., Montagner, A., Roussel, B., Tavernier, G., Marques, M.-A., Moro, C., Guillou, H., Amri, E.-Z., & Langin, D. (2016). White-to-brite conversion in human adipocytes promotes metabolic reprogramming towards fatty acid anabolic and catabolic pathways. *Molecular Metabolism*, *5*(5), 352-365. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.03.002>
- Barquissau, V., Ghandour, R. A., Ailhaud, G., Klingenspor, M., Langin, D., Amri, E.-Z., & Pisani, D. F. (2017). Control of adipogenesis by oxylipins, GPCRs and PPARs. *Biochimie*, *136*, 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.12.012>
- Bartness, T. J., Liu, Y., Shrestha, Y. B., & Ryu, V. (2014). Neural innervation of white adipose tissue and the control of lipolysis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *35*(4), 473-493. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.04.001>
- Bartness, T. J., Shrestha, Y. B., Vaughan, C. H., Schwartz, G. J., & Song, C. K. (2010). Sensory and sympathetic nervous system control of white adipose tissue lipolysis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *318*(1-2), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.031>
- Baskin, A. S., Linderman, J. D., Brychta, R. J., McGehee, S., Anflück-Chames, E., Cero, C., Johnson, J. W., O'Mara, A. E., Fletcher, L. A., Leitner, B. P., Duckworth, C. J., Huang, S., Cai, H., Garraffo, H. M., Millo, C. M., Dieckmann, W., Tolstikov, V., Chen, E. Y., Gao, F., ... Cypess, A. M. (2018). Regulation of human adipose tissue activation, gallbladder size, and bile acid metabolism by a  $\beta$  3-adrenergic receptor agonist. *Diabetes*, *67*(10), 2113-2125. <https://doi.org/10.2337/db18-0462>
- Bassaganya-Riera, J., Misyak, S., Guri, A. J., & Hontecillas, R. (2009). PPAR gamma is highly expressed in F4/80(Hi) adipose tissue macrophages and dampens adipose-tissue inflammation. *Cellular Immunology*, *258*(2), 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2009.04.003>
- Bast-Habersbrunner, A., & Fromme, T. (2020). Purine nucleotides in the regulation of brown adipose tissue activity. *Frontiers in Endocrinology*, *11*, 118. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00118>
- Bayindir, I., Babaeikishomi, R., Kocanova, S., Sousa, I. S., Lerch, S., Hardt, O., Wild, S., Bosio, A., Bystricky, K., Herzig, S., & Vegiopoulos, A. (2015). Transcriptional pathways in cpig2-induced adipocyte progenitor activation for browning. *Frontiers in Endocrinology*, *6*, 129. <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00129>
- Berg, F., Gustafson, U., & Andersson, L. (2006). The uncoupling protein 1 gene (Ucp1) is disrupted in the pig lineage : A genetic explanation for poor thermoregulation in piglets. *PLoS Genetics*, *2*(8), e129. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020129>

- Bergouignan, A., & Blanc, S. (2006). [The energetics of obesity]. *Journal De La Societe De Biologie*, 200(1), 29-35. <https://doi.org/10.1051/jbio:2006004>
- Berrington de Gonzalez, A., Hartge, P., Cerhan, J. R., Flint, A. J., Hannan, L., MaInnis, R. J., Moore, S. C., Tobias, G. S., Anton-Culver, H., Freeman, L. B., Beeson, W. L., Clipp, S. L., English, D. R., Folsom, A. R., Freedman, D. M., Giles, G., Hakansson, N., Henderson, K. D., Hoffman-Bolton, J., ... Thun, M. J. (2010). Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *The New England Journal of Medicine*, 363(23), 2211-2219. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1000367>
- Bertola, A., Gallerand, A., & Ivanov, S. (2022). Immune cell involvement in brown adipose tissue functions. *Discovery Immunology*, 1(1), kyac007. <https://doi.org/10.1093/discim/kyac007>
- Bezair, V., Mairal, A., Ribet, C., Lefort, C., Girusse, A., Jocken, J., Laurencikienė, J., Anesia, R., Rodriguez, A.-M., Ryden, M., Stenson, B. M., Dani, C., Ailhaud, G., Arner, P., & Langin, D. (2009). Contribution of adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase to lipolysis in hMADS adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(27), 18282-18291. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.008631>
- Bhaskaran, K., Dos-Santos-Silva, I., Leon, D. A., Douglas, I. J., & Smeeth, L. (2018). Association of BMI with overall and cause-specific mortality : A population-based cohort study of 3·6 million adults in the UK. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 6(12), 944-953. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30288-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30288-2)
- Bhaskaran, K., Douglas, I., Forbes, H., dos-Santos-Silva, I., Leon, D. A., & Smeeth, L. (2014). Body-mass index and risk of 22 specific cancers : A population-based cohort study of 5·24 million UK adults. *Lancet (London, England)*, 384(9945), 755-765. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60892-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60892-8)
- Bianco, A. C., & Kim, B. W. (2006). Deiodinases : Implications of the local control of thyroid hormone action. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(10), 2571-2579. <https://doi.org/10.1172/JCI29812>
- Bianco, A. C., & McAninch, E. A. (2013). The role of thyroid hormone and brown adipose tissue in energy homeostasis. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 1(3), 250-258. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70069-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70069-X)
- Bickerton, A. S. T., Roberts, R., Fielding, B. A., Tornqvist, H., Blaak, E. E., Wagenmakers, A. J. M., Gilbert, M., Humphreys, S. M., Karpe, F., & Frayn, K. N. (2008). Adipose tissue fatty acid metabolism in insulin-resistant men. *Diabetologia*, 51(8), 1466-1474. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-1040-x>
- Björntorp, P. (1990). « Portal » adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)*, 10(4), 493-496.
- Blazkiewicz, M., Willows, J. W., Dubois, A. L., Waible, S., DiBello, K., Lyons, L. L., Johnson, C. P., Paradie, E., Banks, N., Motyl, K., Michael, M., Harrison, B., & Townsend, K. L. (2019). Neuropathy and neural plasticity in the subcutaneous white adipose depot. *PLoS One*, 14(9), e0221766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221766>
- Bliddal, H., Leeds, A. R., & Christensen, R. (2014). Osteoarthritis, obesity and weight loss : Evidence, hypotheses and horizons - a scoping review. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 15(7), 578-586. <https://doi.org/10.1111/obr.12173>
- Blondin, D. P., Daoud, A., Taylor, T., Tingelstad, H. C., Bézaire, V., Richard, D., Carpentier, A. C., Taylor, A. W., Harper, M.-E., Aguer, C., & Haman, F. (2017). Four-week cold acclimation in adult humans shifts uncoupling thermogenesis from skeletal muscles to brown adipose tissue. *The Journal of Physiology*, 595(6), 2099-2113. <https://doi.org/10.1113/JP273395>

- Blondin, D. P., Dépault, I., Imbeault, P., Péronnet, F., Imbeault, M.-A., & Haman, F. (2010). Effects of two glucose ingestion rates on substrate utilization during moderate-intensity shivering. *European Journal of Applied Physiology*, *108*(2), 289-300. <https://doi.org/10.1007/s00421-009-1210-7>
- Blondin, D. P., Frisch, F., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É. E., Haman, F., Richard, D., & Carpentier, A. C. (2017). Inhibition of intracellular triglyceride lipolysis suppresses cold-induced brown adipose tissue metabolism and increases shivering in humans. *Cell Metabolism*, *25*(2), 438-447. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.12.005>
- Blondin, D. P., Labbé, S. M., Noll, C., Kunach, M., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É. E., Haman, F., Richard, D., & Carpentier, A. C. (2015). Selective impairment of glucose but not fatty acid or oxidative metabolism in brown adipose tissue of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*, *64*(7), 2388-2397. <https://doi.org/10.2337/db14-1651>
- Blondin, D. P., Labbé, S. M., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É. E., Richard, D., Carpentier, A. C., & Haman, F. (2015). Contributions of white and brown adipose tissues and skeletal muscles to acute cold-induced metabolic responses in healthy men. *The Journal of Physiology*, *593*(3), 701-714. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.283598>
- Blondin, D. P., Nielsen, S., Kuipers, E. N., Severinsen, M. C., Jensen, V. H., Miard, S., Jespersen, N. Z., Kooijman, S., Boon, M. R., Fortin, M., Phoenix, S., Frisch, F., Guérin, B., Turcotte, É. E., Haman, F., Richard, D., Picard, F., Rensen, P. C. N., Scheele, C., & Carpentier, A. C. (2020). Human brown adipocyte thermogenesis is driven by  $\beta$  2-ar stimulation. *Cell Metabolism*, *32*(2), 287-300.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.07.005>
- Blondin, D. P., Tingelstad, H. C., Noll, C., Frisch, F., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É. E., Richard, D., Haman, F., & Carpentier, A. C. (2017). Dietary fatty acid metabolism of brown adipose tissue in cold-acclimated men. *Nature Communications*, *8*, 14146. <https://doi.org/10.1038/ncomms14146>
- Blüher, M. (2020). Metabolically healthy obesity. *Endocrine Reviews*, *41*(3), bnaa004. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa004>
- Bonet, M. L., Mercader, J., & Palou, A. (2017). A nutritional perspective on UCP1-dependent thermogenesis. *Biochimie*, *134*, 99-117. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.12.014>
- Bordicchia, M., Liu, D., Amri, E.-Z., Ailhaud, G., Dessì-Fulgheri, P., Zhang, C., Takahashi, N., Sarzani, R., & Collins, S. (2012). Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, *122*(3), 1022-1036. <https://doi.org/10.1172/JCI59701>
- 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., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Højlund, K., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, *481*(7382), 463-468. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
- Bouillaud, F., Alves-Guerra, M.-C., & Ricquier, D. (2016). UCPs, at the interface between bioenergetics and metabolism. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1863*(10), 2443-2456. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.04.013>
- Bowers, R. R., Kim, J. W., Otto, T. C., & Lane, M. D. (2006). Stable stem cell commitment to the adipocyte lineage by inhibition of DNA methylation : Role of the BMP-4 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(35), 13022-13027. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605789103>
- Boyle, K. B., Hadaschik, D., Virtue, S., Cawthorn, W. P., Ridley, S. H., O'Rahilly, S., & Siddle, K. (2009). The transcription factors Egr1 and Egr2 have opposing influences on adipocyte

- differentiation. *Cell Death and Differentiation*, 16(5), 782-789.  
<https://doi.org/10.1038/cdd.2009.11>
- Brooks, B., Arch, J. R., & Newsholme, E. A. (1982). Effects of hormones on the rate of the triacylglycerol/fatty acid substrate cycle in adipocytes and epididymal fat pads. *FEBS Letters*, 146(2), 327-330. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(82\)80945-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(82)80945-9)
- Brown, A., Flint, S. W., & Batterham, R. L. (2022). Pervasiveness, impact and implications of weight stigma. *EClinicalMedicine*, 47, 101408. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101408>
- Brown, G. C. (1992). Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *The Biochemical Journal*, 284 ( Pt 1)(Pt 1), 1-13. <https://doi.org/10.1042/bj2840001>
- Burke, L. E., Wang, J., & Sevick, M. A. (2011). Self-monitoring in weight loss : A systematic review of the literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 111(1), 92-102.  
<https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.10.008>
- Burrell, J. A., Richard, A. J., King, W. T., & Stephens, J. M. (2020). Mitochondrial pyruvate carriers are not required for adipogenesis but are regulated by high-fat feeding in brown adipose tissue. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(2), 293-302. <https://doi.org/10.1002/oby.22678>
- Burýsek, L., & Houstek, J. (1997). Beta-adrenergic stimulation of interleukin-1alpha and interleukin-6 expression in mouse brown adipocytes. *FEBS Letters*, 411(1), 83-86.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00671-6](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00671-6)
- Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue : Function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 84(1), 277-359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>
- Cao, E., Cordero-Morales, J. F., Liu, B., Qin, F., & Julius, D. (2013). TRPV1 channels are intrinsically heat sensitive and negatively regulated by phosphoinositide lipids. *Neuron*, 77(4), 667-679.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.016>
- Cao, H., Gerhold, K., Mayers, J. R., Wiest, M. M., Watkins, S. M., & Hotamisligil, G. S. (2008). Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell*, 134(6), 933-944. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.048>
- Cao, Y. (2007). Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(9), 2362-2368. <https://doi.org/10.1172/JCI32239>
- Cao, Z., Umek, R. M., & McKnight, S. L. (1991). Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Genes & Development*, 5(9), 1538-1552.  
<https://doi.org/10.1101/gad.5.9.1538>
- Carrière, A., Jeanson, Y., Berger-Müller, S., André, M., Chenouard, V., Arnaud, E., Barreau, C., Walther, R., Galinier, A., Wdziekonski, B., Villageois, P., Louche, K., Collas, P., Moro, C., Dani, C., Villarroja, F., & Casteilla, L. (2014). Browning of white adipose cells by intermediate metabolites : An adaptive mechanism to alleviate redox pressure. *Diabetes*, 63(10), 3253-3265. <https://doi.org/10.2337/db13-1885>
- Carvalho, L. A., Urbanova, L., Hamer, M., Hackett, R. A., Lazzarino, A. I., & Steptoe, A. (2015). Blunted glucocorticoid and mineralocorticoid sensitivity to stress in people with diabetes. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 209-218. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.09.023>
- Caterina, M. J., Rosen, T. A., Tominaga, M., Brake, A. J., & Julius, D. (1999). A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature*, 398(6726), 436-441.  
<https://doi.org/10.1038/18906>
- Cattaneo, P., Mukherjee, D., Spinozzi, S., Zhang, L., Larcher, V., Stallcup, W. B., Kataoka, H., Chen, J., Dimmeler, S., Evans, S. M., & Guimarães-Camboa, N. (2020). Parallel lineage-tracing studies establish fibroblasts as the prevailing in vivo adipocyte progenitor. *Cell Reports*, 30(2), 571-582.e2. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.12.046>

- Cawthorn, W. P., & Sethi, J. K. (2008). TNF-alpha and adipocyte biology. *FEBS Letters*, *582*(1), 117-131. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.11.051>
- Chae, W., Ju, Y. J., Shin, J., Jang, S.-I., & Park, E.-C. (2018). Association between eating behaviour and diet quality : Eating alone vs. eating with others. *Nutrition Journal*, *17*(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0424-0>
- Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M., & Sanyal, A. J. (2012). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease : Practice guideline by the american association for the study of liver diseases, american college of gastroenterology, and the american gastroenterological association. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *55*(6), 2005-2023. <https://doi.org/10.1002/hep.25762>
- Champigny, O., Holloway, B. R., & Ricquier, D. (1992). Regulation of UCP gene expression in brown adipocytes differentiated in primary culture. Effects of a new beta-adrenoceptor agonist. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *86*(1-2), 73-82. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(92\)90177-8](https://doi.org/10.1016/0303-7207(92)90177-8)
- Chandra, V., Huang, P., Hamuro, Y., Raghuram, S., Wang, Y., Burris, T. P., & Rastinejad, F. (2008). Structure of the intact PPAR-gamma-RXR- nuclear receptor complex on DNA. *Nature*, *456*(7220), 350-356. <https://doi.org/10.1038/nature07413>
- Chapman, A. B., Knight, D. M., & Ringold, G. M. (1985). Glucocorticoid regulation of adipocyte differentiation : Hormonal triggering of the developmental program and induction of a differentiation-dependent gene. *The Journal of Cell Biology*, *101*(4), 1227-1235. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1227>
- Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L. A., Woolf, E. A., Weng, X., Ellis, S. J., Lakey, N. D., Culpepper, J., Moore, K. J., Breitbart, R. E., Duyk, G. M., Tepper, R. I., & Morgenstern, J. P. (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor : Identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, *84*(3), 491-495. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81294-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81294-5)
- Chen, N., Cheng, J., Zhou, L., Lei, T., Chen, L., Shen, Q., Qin, L., & Wan, Z. (2015). Effects of treadmill running and rutin on lipolytic signaling pathways and TRPV4 protein expression in the adipose tissue of diet-induced obese mice. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *71*(4), 733-742. <https://doi.org/10.1007/s13105-015-0437-5>
- Chen, Y., Wang, Y., Chen, J., Chen, X., Cao, W., Chen, S., Xu, S., Huang, H., & Liu, P. (2012). Roles of transcriptional corepressor RIP140 and coactivator PGC-1 $\alpha$  in energy state of chronically infarcted rat hearts and mitochondrial function of cardiomyocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *362*(1-2), 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.03.023>
- Chitraju, C., Fischer, A. W., Ambaw, Y. A., Wang, K., Yuan, B., Hui, S., Walther, T. C., & Farese, R. V. (2023). Mice lacking triglyceride synthesis enzymes in adipose tissue are resistant to diet-induced obesity. *eLife*, *12*, RP88049. <https://doi.org/10.7554/eLife.88049>
- Chitraju, C., Fischer, A. W., Farese, R. V., & Walther, T. C. (2020). Lipid droplets in brown adipose tissue are dispensable for cold-induced thermogenesis. *Cell Reports*, *33*(5), 108348. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108348>
- Chitraju, C., Walther, T. C., & Farese, R. V. (2019). The triglyceride synthesis enzymes DGAT1 and DGAT2 have distinct and overlapping functions in adipocytes. *Journal of Lipid Research*, *60*(6), 1112-1120. <https://doi.org/10.1194/jlr.M093112>
- Choi, J. H., Banks, A. S., Kamenecka, T. M., Busby, S. A., Chalmers, M. J., Kumar, N., Kuruvilla, D. S., Shin, Y., He, Y., Bruning, J. B., Marciano, D. P., Cameron, M. D., Laznik, D., Jurczak, M. J., Schürer, S. C., Vidović, D., Shulman, G. I., Spiegelman, B. M., & Griffin, P. R. (2011). Antidiabetic actions of a non-agonist PPAR $\gamma$  ligand blocking Cdk5-mediated phosphorylation.

- Nature*, 477(7365), 477-481. <https://doi.org/10.1038/nature10383>
- Choi, J. H., Choi, S.-S., Kim, E. S., Jedrychowski, M. P., Yang, Y. R., Jang, H.-J., Suh, P.-G., Banks, A. S., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2014). Thrap3 docks on phosphoserine 273 of PPAR $\gamma$  and controls diabetic gene programming. *Genes & Development*, 28(21), 2361-2369. <https://doi.org/10.1101/gad.249367.114>
- Choi, S.-S., Park, J., & Choi, J. H. (2014). Revisiting PPAR $\gamma$  as a target for the treatment of metabolic disorders. *BMB Reports*, 47(11), 599-608. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2014.47.11.174>
- Chondronikola, M., Volpi, E., Børshiem, E., Porter, C., Saraf, M. K., Annamalai, P., Yfanti, C., Chao, T., Wong, D., Shinoda, K., Labbè, S. M., Hurren, N. M., Cesani, F., Kajimura, S., & Sidossis, L. S. (2016). Brown adipose tissue activation is linked to distinct systemic effects on lipid metabolism in humans. *Cell Metabolism*, 23(6), 1200-1206. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.029>
- Chouchani, E. T., & Kajimura, S. (2019). Metabolic adaptation and maladaptation in adipose tissue. *Nature Metabolism*, 1(2), 189-200. <https://doi.org/10.1038/s42255-018-0021-8>
- Chouchani, E. T., Kazak, L., Jedrychowski, M. P., Lu, G. Z., Erickson, B. K., Szpyt, J., Pierce, K. A., Laznik-Bogoslavski, D., Vetrivelan, R., Clish, C. B., Robinson, A. J., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2016). Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1. *Nature*, 532(7597), 112-116. <https://doi.org/10.1038/nature17399>
- Christiaens, V., Van Hul, M., Lijnen, H. R., & Scroyen, I. (2012). CD36 promotes adipocyte differentiation and adipogenesis. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1820(7), 949-956. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.04.001>
- Christoffolete, M. A., Linardi, C. C. G., de Jesus, L., Ebina, K. N., Carvalho, S. D., Ribeiro, M. O., Rabelo, R., Curcio, C., Martins, L., Kimura, E. T., & Bianco, A. C. (2004). Mice with targeted disruption of the Dio2 gene have cold-induced overexpression of the uncoupling protein 1 gene but fail to increase brown adipose tissue lipogenesis and adaptive thermogenesis. *Diabetes*, 53(3), 577-584. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.3.577>
- Çimen, I., Kocatürk, B., Koyuncu, S., Tufanlı, Ö., Onat, U. I., Yıldırım, A. D., Apaydın, O., Demirsoy, Ş., Aykut, Z. G., Nguyen, U. T., Watkins, S. M., Hotamışligil, G. S., & Erbay, E. (2016). Prevention of atherosclerosis by bioactive palmitoleate through suppression of organelle stress and inflammasome activation. *Science Translational Medicine*, 8(358), 358ra126. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf9087>
- Cinti, S. (2018). Adipose organ development and remodeling. *Comprehensive Physiology*, 8(4), 1357-1431. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170042>
- Clément, K., van den Akker, E., Argente, J., Bahm, A., Chung, W. K., Connors, H., De Waele, K., Farooqi, I. S., Gonneau-Lejeune, J., Gordon, G., Kohlsdorf, K., Poitou, C., Puder, L., Swain, J., Stewart, M., Yuan, G., Wabitsch, M., Kühnen, P., & Setmelanotide POMC and LEPR Phase 3 Trial Investigators. (2020). Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency : Single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 8(12), 960-970. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30364-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30364-8)
- Coats, B. R., Schoenfelt, K. Q., Barbosa-Lorenzi, V. C., Peris, E., Cui, C., Hoffman, A., Zhou, G., Fernandez, S., Zhai, L., Hall, B. A., Haka, A. S., Shah, A. M., Reardon, C. A., Brady, M. J., Rhodes, C. J., Maxfield, F. R., & Becker, L. (2017). Metabolically activated adipose tissue macrophages perform detrimental and beneficial functions during diet-induced obesity. *Cell Reports*, 20(13), 3149-3161. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.096>
- Coburn, C. T., Knapp, F. F., Febbraio, M., Beets, A. L., Silverstein, R. L., & Abumrad, N. A. (2000). Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of



- CD36 knockout mice. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(42), 32523-32529.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M003826200>
- Cohade, C., Mourtzikos, K. A., & Wahl, R. L. (2003). « USA-Fat » : Prevalence is related to ambient outdoor temperature-evaluation with 18F-FDG PET/CT. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 44(8), 1267-1270.
- Cohade, C., Osman, M., Pannu, H. K., & Wahl, R. L. (2003). Uptake in supraclavicular area fat (« Usa-fat ») : Description on 18F-FDG PET/CT. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 44(2), 170-176.
- Cohen, P., & Kajimura, S. (2021). The cellular and functional complexity of thermogenic fat. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(6), 393-409. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00350-0>
- Colberg, S. R., Sigal, R. J., Yardley, J. E., Riddell, M. C., Dunstan, D. W., Dempsey, P. C., Horton, E. S., Castorino, K., & Tate, D. F. (2016). Physical activity/exercise and diabetes : A position statement of the american diabetes association. *Diabetes Care*, 39(11), 2065-2079.  
<https://doi.org/10.2337/dc16-1728>
- Colson, C., Batrow, P.-L., Dieckmann, S., Contu, L., Roux, C. H., Balas, L., Vigor, C., Fourmaux, B., Gautier, N., Rochet, N., Bernoud-Hubac, N., Durand, T., Langin, D., Klingenspor, M., & Amri, E.-Z. (2023). Effects of fatty acid metabolites on adipocytes browning : Role of thromboxane a2. *Cells*, 12(3), 446. <https://doi.org/10.3390/cells12030446>
- Colson, C., Batrow, P.-L., Gautier, N., Rochet, N., Ailhaud, G., Peiretti, F., & Amri, E.-Z. (2020). The rosmarinus bioactive compound carnosic acid is a novel ppar antagonist that inhibits the browning of white adipocytes. *Cells*, 9(11), 2433. <https://doi.org/10.3390/cells9112433>
- Coste, B., Mathur, J., Schmidt, M., Earley, T. J., Ranade, S., Petrus, M. J., Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6000), 55-60.  
<https://doi.org/10.1126/science.1193270>
- Coste, B., Xiao, B., Santos, J. S., Syeda, R., Grandl, J., Spencer, K. S., Kim, S. E., Schmidt, M., Mathur, J., Dubin, A. E., Montal, M., & Patapoutian, A. (2012). Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels. *Nature*, 483(7388), 176-181.  
<https://doi.org/10.1038/nature10812>
- Cousin, B., Cinti, S., Morrioni, M., Raimbault, S., Ricquier, D., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (1992). Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue : Molecular and morphological characterization. *Journal of Cell Science*, 103 ( Pt 4), 931-942.  
<https://doi.org/10.1242/jcs.103.4.931>
- Crandall, D. L., Quinet, E. M., El Ayachi, S., Hreha, A. L., Leik, C. E., Savio, D. A., Juhan-Vague, I., & Alessi, M.-C. (2006). Modulation of adipose tissue development by pharmacological inhibition of PAI-1. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26(10), 2209-2215.  
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000235605.51400.9d>
- Crewe, C. (2022). The challenges of interrogating adipose tissue extracellular vesicle functions in physiology. *Communications Biology*, 5(1), 581. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03511-9>
- 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., Kolodny, G. M., & Kahn, C. R. (2009). Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *New England Journal of Medicine*, 360(15), 1509-1517. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810780>
- Dalen, K. T., Ulven, S. M., Arntsen, B. M., Solaas, K., & Nebb, H. I. (2006). PPARalpha activators and fasting induce the expression of adipose differentiation-related protein in liver. *Journal of*

- Lipid Research*, 47(5), 931-943. <https://doi.org/10.1194/jlr.M500459-JLR200>
- Daum, G., Wagner, A., Czabany, T., & Athenstaedt, K. (2007). Dynamics of neutral lipid storage and mobilization in yeast. *Biochimie*, 89(2), 243-248. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.06.018>
- Defour, M., Dijk, W., Ruppert, P., Nascimento, E. B. M., Schrauwen, P., & Kersten, S. (2018). The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  is dispensable for cold-induced adipose tissue browning in mice. *Molecular Metabolism*, 10, 39-54. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.01.023>
- Delamaire C, Sarda B, Ducrot P, Verdote C, Deschamps V, Serry AJ. Comportements alimentaires et déterminants de la prise de poids des adultes en France pendant le confinement lié à la Covid-19 : évolutions perçues (CoviPrev, 2020). *Bull Epidémiol Hebd.* 2021;(Cov\_7):2-11. [http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2021/Cov\\_7/2021\\_Cov\\_7\\_1.html](http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2021/Cov_7/2021_Cov_7_1.html)
- Després, J.-P. (2012a). Abdominal obesity and cardiovascular disease : Is inflammation the missing link? *The Canadian Journal of Cardiology*, 28(6), 642-652. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2012.06.004>
- Després, J.-P. (2012b). Body fat distribution and risk of cardiovascular disease : An update. *Circulation*, 126(10), 1301-1313. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.067264>
- Després, J.-P., & Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 444(7121), 881-887. <https://doi.org/10.1038/nature05488>
- Dienes, B., Bazsó, T., Szabó, L., & Csernoch, L. (2023). The role of the piezo1 mechanosensitive channel in the musculoskeletal system. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6513. <https://doi.org/10.3390/ijms24076513>
- Diraison, F., Yankah, V., Letexier, D., Dusserre, E., Jones, P., & Beylot, M. (2003). Differences in the regulation of adipose tissue and liver lipogenesis by carbohydrates in humans. *Journal of Lipid Research*, 44(4), 846-853. <https://doi.org/10.1194/jlr.M200461-JLR200>
- Divella, R., Mazzocca, A., Daniele, A., Sabbà, C., & Paradiso, A. (2019). Obesity, nonalcoholic fatty liver disease and adipocytokines network in promotion of cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 15(3), 610-616. <https://doi.org/10.7150/ijbs.29599>
- Donhoffer, S., Sardy, F., & Szegvari, G. (1964). Brown adipose tissue and thermoregulatory heat production in the rat. *Nature*, 203, 765-766. <https://doi.org/10.1038/203765b0>
- Douris, N., Stevanovic, D. M., Fisher, F. M., Cisu, T. I., Chee, M. J., Nguyen, N. L., Zarebidaki, E., Adams, A. C., Kharitonov, A., Flier, J. S., Bartness, T. J., & Maratos-Flier, E. (2015). Central fibroblast growth factor 21 browns white fat via sympathetic action in male mice. *Endocrinology*, 156(7), 2470-2481. <https://doi.org/10.1210/en.2014-2001>
- Dufau, J., Shen, J. X., Couchet, M., De Castro Barbosa, T., Mejhert, N., Massier, L., Grisetti, E., Mouisel, E., Amri, E.-Z., Lauschke, V. M., Rydén, M., & Langin, D. (2021). In vitro and ex vivo models of adipocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 320(5), C822-C841. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00519.2020>
- Dunmore, S. J., & Brown, J. E. P. (2013). The role of adipokines in  $\beta$ -cell failure of type 2 diabetes. *The Journal of Endocrinology*, 216(1), T37-45. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0278>
- Dussault, I., & Forman, B. M. (2000). Prostaglandins and fatty acids regulate transcriptional signaling via the peroxisome proliferator activated receptor nuclear receptors. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 62(1), 1-13. [https://doi.org/10.1016/s0090-6980\(00\)00071-x](https://doi.org/10.1016/s0090-6980(00)00071-x)
- Egusa, G., Ohno, H., Nagano, G., Sagawa, J., Shinjo, H., Yamamoto, Y., Himeno, N., Morita, Y., Kanai, A., Baba, R., Kobuke, K., Oki, K., Yoneda, M., & Hattori, N. (2023). Selective activation of PPAR $\alpha$  maintains thermogenic capacity of beige adipocytes. *iScience*, 26(7), 107143.

<https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107143>

- Eissing, L., Scherer, T., Tödter, K., Knippschild, U., Greve, J. W., Buurman, W. A., Pinnschmidt, H. O., Rensen, S. S., Wolf, A. M., Bartelt, A., Heeren, J., Buettner, C., & Scheja, L. (2013). De novo lipogenesis in human fat and liver is linked to ChREBP- $\beta$  and metabolic health. *Nature Communications*, 4, 1528. <https://doi.org/10.1038/ncomms2537>
- Elabd, C., Chiellini, C., Carmona, M., Galitzky, J., Cochet, O., Petersen, R., Pénicaud, L., Kristiansen, K., Bouloumié, A., Casteilla, L., Dani, C., Ailhaud, G., & Amri, E.-Z. (2009). Human multipotent adipose-derived stem cells differentiate into functional brown adipocytes. *Stem Cells*, 27(11), 2753-2760. <https://doi.org/10.1002/stem.200>
- Elabd, C., Chiellini, C., Massoudi, A., Cochet, O., Zaragosi, L.-E., Trojani, C., Michiels, J.-F., Weiss, P., Carle, G., Rochet, N., Dechesne, C. A., Ailhaud, G., Dani, C., & Amri, E.-Z. (2007). Human adipose tissue-derived multipotent stem cells differentiate in vitro and in vivo into osteocyte-like cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 361(2), 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.06.180>
- Elsen, M., Raschke, S., Tennagels, N., Schwahn, U., Jelenik, T., Roden, M., Romacho, T., & Eckel, J. (2014). BMP4 and BMP7 induce the white-to-brown transition of primary human adipose stem cells. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 306(5), C431-440. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00290.2013>
- Endemann, G., Stanton, L. W., Madden, K. S., Bryant, C. M., White, R. T., & Protter, A. A. (1993). CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(16), 11811-11816.
- Enerbäck, S. (2010). Human brown adipose tissue. *Cell Metabolism*, 11(4), 248-252. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.008>
- Enerbäck, S., Jacobsson, A., Simpson, E. M., Guerra, C., Yamashita, H., Harper, M. E., & Kozak, L. P. (1997). Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature*, 387(6628), 90-94. <https://doi.org/10.1038/387090a0>
- Escher, P., Braissant, O., Basu-Modak, S., Michalik, L., Wahli, W., & Desvergne, B. (2001). Rat PPARs : Quantitative analysis in adult rat tissues and regulation in fasting and refeeding. *Endocrinology*, 142(10), 4195-4202. <https://doi.org/10.1210/endo.142.10.8458>
- Eslam, M., Newsome, P. N., Sarin, S. K., Anstee, Q. M., Targher, G., Romero-Gomez, M., Zelber-Sagi, S., Wai-Sun Wong, V., Dufour, J.-F., Schattenberg, J. M., Kawaguchi, T., Arrese, M., Valenti, L., Shiha, G., Tiribelli, C., Yki-Järvinen, H., Fan, J.-G., Grønbaek, H., Yilmaz, Y., ... George, J. (2020). A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease : An international expert consensus statement. *Journal of Hepatology*, 73(1), 202-209. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.03.039>
- Fajas, L., Auboeuf, D., Raspé, E., Schoonjans, K., Lefebvre, A. M., Saladin, R., Najib, J., Laville, M., Fruchart, J. C., Deeb, S., Vidal-Puig, A., Flier, J., Briggs, M. R., Staels, B., Vidal, H., & Auwerx, J. (1997). The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(30), 18779-18789. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.30.18779>
- Fang, B., Liu, Y., Zheng, D., Shan, S., Wang, C., Gao, Y., Wang, J., Xie, Y., Zhang, Y., & Li, Q. (2019). The effects of mechanical stretch on the biological characteristics of human adipose-derived stem cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(6), 4244-4255. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14314>
- Farooqi, I. S., & O'Rahilly, S. (2014). 20 years of leptin : Human disorders of leptin action. *The Journal of Endocrinology*, 223(1), T63-70. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0480>

- Farooqi, I. S., Wangensteen, T., Collins, S., Kimber, W., Matarese, G., Keogh, J. M., Lank, E., Bottomley, B., Lopez-Fernandez, J., Ferraz-Amaro, I., Dattani, M. T., Ercan, O., Myhre, A. G., Retterstol, L., Stanhope, R., Edge, J. A., McKenzie, S., Lessan, N., Ghodsi, M., ... O'Rahilly, S. (2007). Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *The New England Journal of Medicine*, *356*(3), 237-247. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa063988>
- Faye, A., Borthwick, K., Esnous, C., Price, N. T., Gobin, S., Jackson, V. N., Zammit, V. A., Girard, J., & Prip-Buus, C. (2005). Demonstration of N- and C-terminal domain intramolecular interactions in rat liver carnitine palmitoyltransferase 1 that determine its degree of malonyl-CoA sensitivity. *The Biochemical Journal*, *387*(Pt 1), 67-76. <https://doi.org/10.1042/BJ20041533>
- Fedorenko, A., Lishko, P. V., & Kirichok, Y. (2012). Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell*, *151*(2), 400-413. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.09.010>
- Finer, S., Iqbal, M. S., Lowe, R., Ogunkolade, B. W., Pervin, S., Mathews, C., Smart, M., Alam, D. S., & Hitman, G. A. (2016). Is famine exposure during developmental life in rural Bangladesh associated with a metabolic and epigenetic signature in young adulthood? A historical cohort study. *BMJ Open*, *6*(11), e011768. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011768>
- Fontbonne, A., Currie, A., Tounian, P., Picot, M.-C., Foulatier, O., Nedelcu, M., & Nocca, D. (2023). Prevalence of overweight and obesity in france : The 2020 obepi-roche study by the « ligue contre l'obésité ». *Journal of Clinical Medicine*, *12*(3), 925. <https://doi.org/10.3390/jcm12030925>
- Forman, B. M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B. M., & Evans, R. M. (1995). 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell*, *83*(5), 803-812. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90193-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90193-0)
- Fougerat, A., Schoiswohl, G., Polizzi, A., Régnier, M., Wagner, C., Smati, S., Fougeray, T., Lippi, Y., Lasserre, F., Raho, I., Melin, V., Tramunt, B., Métivier, R., Sommer, C., Benhamed, F., Alkhoury, C., Greulich, F., Jouffe, C., Emile, A., ... Guillou, H. (2022). ATGL-dependent white adipose tissue lipolysis controls hepatocyte PPAR $\alpha$  activity. *Cell Reports*, *39*(10), 110910. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110910>
- Frayling, T. M., Timpson, N. J., Weedon, M. N., Zeggini, E., Freathy, R. M., Lindgren, C. M., Perry, J. R. B., Elliott, K. S., Lango, H., Rayner, N. W., Shields, B., Harries, L. W., Barrett, J. C., Ellard, S., Groves, C. J., Knight, B., Patch, A.-M., Ness, A. R., Ebrahim, S., ... McCarthy, M. I. (2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science (New York, N.Y.)*, *316*(5826), 889-894. <https://doi.org/10.1126/science.1141634>
- Freeman, C. R., Zehra, A., Ramirez, V., Wiers, C. E., Volkow, N. D., & Wang, G.-J. (2018). Impact of sugar on the body, brain, and behavior. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, *23*(12), 2255-2266. <https://doi.org/10.2741/4704>
- Friedman, J. (2016). The long road to leptin. *The Journal of Clinical Investigation*, *126*(12), 4727-4734. <https://doi.org/10.1172/JCI91578>
- Friedman, S. L., Neuschwander-Tetri, B. A., Rinella, M., & Sanyal, A. J. (2018). Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature Medicine*, *24*(7), 908-922. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9>
- Friegolet, M. E., & Gutiérrez-Aguilar, R. (2017). The role of the novel lipokine palmitoleic acid in health and disease. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, *8*(1), 173S-181S. <https://doi.org/10.3945/an.115.011130>
- Fujimoto, T., & Parton, R. G. (2011). Not just fat : The structure and function of the lipid droplet. *Cold*

- Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(3), a004838.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004838>
- Fujisaka, S., Usui, I., Bukhari, A., Ikutani, M., Oya, T., Kanatani, Y., Tsuneyama, K., Nagai, Y., Takatsu, K., Urakaze, M., Kobayashi, M., & Tobe, K. (2009). Regulatory mechanisms for adipose tissue M1 and M2 macrophages in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 58(11), 2574-2582.  
<https://doi.org/10.2337/db08-1475>
- Fukumura, D., Ushiyama, A., Duda, D. G., Xu, L., Tam, J., Krishna, V., Chatterjee, K., Garkavtsev, I., & Jain, R. K. (2003). Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during in vivo adipogenesis. *Circulation Research*, 93(9), e88-97.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000099243.20096.FA>
- Ghaben, A. L., & Scherer, P. E. (2019). Adipogenesis and metabolic health. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 20(4), 242-258. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0093-z>
- Gagelin, A., Largeau, C., Masscheleyn, S., Piel, M. S., Calderón-Mora, D., Bouillaud, F., Hénin, J., & Miroux, B. (2023). Molecular determinants of inhibition of UCP1-mediated respiratory uncoupling. *Nature Communications*, 14(1), 2594. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38219-9>
- Gallerand, A., Stunault, M. I., Merlin, J., Luehmann, H. P., Sultan, D. H., Firulyova, M. M., Magnone, V., Khedher, N., Jalil, A., Dolfi, B., Castiglione, A., Dumont, A., Ayrault, M., Vaillant, N., Gilleron, J., Barbry, P., Dombrowicz, D., Mack, M., Masson, D., ... Ivanov, S. (2021). Brown adipose tissue monocytes support tissue expansion. *Nature Communications*, 12(1), 5255.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-25616-1>
- Gao, Z., Daquinag, A. C., Su, F., Snyder, B., & Kolonin, M. G. (2018). PDGFR $\alpha$ /PDGFR $\beta$  signaling balance modulates progenitor cell differentiation into white and beige adipocytes. *Development (Cambridge, England)*, 145(1), dev155861. <https://doi.org/10.1242/dev.155861>
- García-Alonso, V., & Clària, J. (2014). Prostaglandin E2 signals white-to-brown adipogenic differentiation. *Adipocyte*, 3(4), 290-296. <https://doi.org/10.4161/adip.29993>
- García-Alonso, V., Titos, E., Alcaraz-Quiles, J., Rius, B., Lopategi, A., López-Vicario, C., Jakobsson, P.-J., Delgado, S., Lozano, J., & Clària, J. (2016). Prostaglandin e2 exerts multiple regulatory actions on human obese adipose tissue remodeling, inflammation, adaptive thermogenesis and lipolysis. *PLoS One*, 11(4), e0153751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153751>
- García-Beltrán, C., Navarro-Gascon, A., López-Bermejo, A., Quesada-López, T., de Zegher, F., Ibáñez, L., & Villarroja, F. (2023). Meteorin-like levels are associated with active brown adipose tissue in early infancy. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1136245.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1136245>
- Gardin, J. M. (2000). Valvular abnormalities and cardiovascular status following exposure to dexfenfluramine or phentermine/fenfluramine. *JAMA*, 283(13), 1703.  
<https://doi.org/10.1001/jama.283.13.1703>
- Gardner, C. D., Trepanowski, J. F., Del Gobbo, L. C., Hauser, M. E., Rigdon, J., Ioannidis, J. P. A., Desai, M., & King, A. C. (2018). Effect of low-fat vs low-carbohydrate diet on 12-month weight loss in overweight adults and the association with genotype pattern or insulin secretion : The dietfits randomized clinical trial. *JAMA*, 319(7), 667-679.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2018.0245>
- Garvey, W. T., Frias, J. P., Jastreboff, A. M., le Roux, C. W., Sattar, N., Aizenberg, D., Mao, H., Zhang, S., Ahmad, N. N., Bunck, M. C., Benabbad, I., Zhang, X. M., & SURMOUNT-2 investigators. (2023). Tirzepatide once weekly for the treatment of obesity in people with type 2 diabetes (SURMOUNT-2) : A double-blind, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet (London, England)*, 402(10402), 613-626. <https://doi.org/10.1016/S0140->

- Gearing, K. L., Göttlicher, M., Teboul, M., Widmark, E., & Gustafsson, J. A. (1993). Interaction of the peroxisome-proliferator-activated receptor and retinoid X receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*(4), 1440-1444. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.4.1440>
- Gees, M., Owsianik, G., Nilius, B., & Voets, T. (2012). TRP channels. *Comprehensive Physiology*, *2*(1), 563-608. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110026>
- Geslot, A., Bennet, A., Hitzel, A., Thoulouzan, M., Mouly, C., Savagner, F., Quintyn-Ranty, M.-L., Caron, P., & Vezzosi, D. (2019). Weight-loss with activation of brown fat : Suspect pheochromocytoma. *Annales D'endocrinologie*, *80*(5-6), 314-318. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2019.06.004>
- Gesta, S., Tseng, Y.-H., & Kahn, C. R. (2007). Developmental origin of fat : Tracking obesity to its source. *Cell*, *131*(2), 242-256. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.004>
- Ghandour, R. A., Colson, C., Giroud, M., Maurer, S., Rekima, S., Ailhaud, G., Klingenspor, M., Amri, E.-Z., & Pisani, D. F. (2018). Impact of dietary  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acid supplementation on brown and brite adipocyte function. *Journal of Lipid Research*, *59*(3), 452-461. <https://doi.org/10.1194/jlr.M081091>
- Ghandour, R. A., Giroud, M., Vegiopoulos, A., Herzig, S., Ailhaud, G., Amri, E.-Z., & Pisani, D. F. (2016). IP-receptor and PPARs trigger the conversion of human white to brite adipocyte induced by carbaprostacyclin. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1861*(4), 285-293. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2016.01.007>
- Giordano, A., Frontini, A., Castellucci, M., & Cinti, S. (2004). Presence and distribution of cholinergic nerves in rat mediastinal brown adipose tissue. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, *52*(7), 923-930. <https://doi.org/10.1369/jhc.3A6246.2004>
- Global BMI Mortality Collaboration, null, Di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., Berrington de Gonzalez, A., Cairns, B., Huxley, R., Jackson, C., Joshy, G., Lewington, S., Manson, J., Murphy, N., Patel, A., Samet, J., Woodward, M., Zheng, W., Zhou, M., ... Hu, F. (2016). Body-mass index and all-cause mortality : Individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet (London, England)*, *388*(10046), 776-786. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30175-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30175-1)
- Gofton, C., Upendran, Y., Zheng, M.-H., & George, J. (2023). MAFLD : How is it different from NAFLD? *Clinical and Molecular Hepatology*, *29*(Suppl), S17-S31. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0367>
- Goto, T., Hirata, M., Aoki, Y., Iwase, M., Takahashi, H., Kim, M., Li, Y., Jheng, H.-F., Nomura, W., Takahashi, N., Kim, C.-S., Yu, R., Seno, S., Matsuda, H., Aizawa-Abe, M., Ebihara, K., Itoh, N., & Kawada, T. (2017). The hepatokine FGF21 is crucial for peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  agonist-induced amelioration of metabolic disorders in obese mice. *The Journal of Biological Chemistry*, *292*(22), 9175-9190. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.767590>
- Goto, T., Lee, J.-Y., Teraminami, A., Kim, Y.-I., Hirai, S., Uemura, T., Inoue, H., Takahashi, N., & Kawada, T. (2011). Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha stimulates both differentiation and fatty acid oxidation in adipocytes. *Journal of Lipid Research*, *52*(5), 873-884. <https://doi.org/10.1194/jlr.M011320>
- Goulbourne, C. N., Gin, P., Tatar, A., Nobumori, C., Hoenger, A., Jiang, H., Grovenor, C. R. M., Adeyo, O., Esko, J. D., Goldberg, I. J., Reue, K., Tontonoz, P., Bensadoun, A., Beigneux, A. P., Young, S. G., & Fong, L. G. (2014). The GPIHBP1-LPL complex is responsible for the margination of triglyceride-rich lipoproteins in capillaries. *Cell Metabolism*, *19*(5), 849-860.

<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.01.017>

- Grahn, T. H. M., Kaur, R., Yin, J., Schweiger, M., Sharma, V. M., Lee, M.-J., Ido, Y., Smas, C. M., Zechner, R., Lass, A., & Puri, V. (2014). Fat-specific protein 27 (Fsp27) interacts with adipose triglyceride lipase (Atgl) to regulate lipolysis and insulin sensitivity in human adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, *289*(17), 12029-12039. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.539890>
- Grahn, T. H. M., Zhang, Y., Lee, M.-J., Sommer, A. G., Mostoslavsky, G., Fried, S. K., Greenberg, A. S., & Puri, V. (2013). FSP27 and PLIN1 interaction promotes the formation of large lipid droplets in human adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *432*(2), 296-301. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.01.113>
- Granneman, J. G., Moore, H.-P. H., Granneman, R. L., Greenberg, A. S., Obin, M. S., & Zhu, Z. (2007). Analysis of lipolytic protein trafficking and interactions in adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, *282*(8), 5726-5735. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610580200>
- Gray, S. L., Dalla Nora, E., Backlund, E. C., Manieri, M., Virtue, S., Noland, R. C., O'Rahilly, S., Cortright, R. N., Cinti, S., Cannon, B., & Vidal-Puig, A. (2006). Decreased brown adipocyte recruitment and thermogenic capacity in mice with impaired peroxisome proliferator-activated receptor (P465I ppargamma) function. *Endocrinology*, *147*(12), 5708-5714. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0684>
- Green, A., Rumberger, J. M., Stuart, C. A., & Ruhoff, M. S. (2004). Stimulation of lipolysis by tumor necrosis factor-alpha in 3T3-L1 adipocytes is glucose dependent : Implications for long-term regulation of lipolysis. *Diabetes*, *53*(1), 74-81. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.1.74>
- Guerra, C., Koza, R. A., Yamashita, H., Walsh, K., & Kozak, L. P. (1998). Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *The Journal of Clinical Investigation*, *102*(2), 412-420. <https://doi.org/10.1172/JCI3155>
- Guilherme, A., Pedersen, D. J., Henchey, E., Henriques, F. S., Danai, L. V., Shen, Y., Yenilmez, B., Jung, D., Kim, J. K., Lodhi, I. J., Semenkovich, C. F., & Czech, M. P. (2017). Adipocyte lipid synthesis coupled to neuronal control of thermogenic programming. *Molecular Metabolism*, *6*(8), 781-796. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.05.012>
- Gunasekar, S. K., Xie, L., & Sah, R. (2019). SWELL signalling in adipocytes : Can fat « feel » fat? *Adipocyte*, *8*(1), 223-228. <https://doi.org/10.1080/21623945.2019.1612223>
- Guo, X., Li, H., Xu, H., Halim, V., Zhang, W., Wang, H., Ong, K. T., Woo, S.-L., Walzem, R. L., Mashek, D. G., Dong, H., Lu, F., Wei, L., Huo, Y., & Wu, C. (2012). Palmitoleate induces hepatic steatosis but suppresses liver inflammatory response in mice. *PloS One*, *7*(6), e39286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039286>
- Gupta, A., Efthymiou, V., Kodani, S. D., Shamsi, F., Patti, M. E., Tseng, Y.-H., & Streets, A. (2023). Mapping the transcriptional landscape of human white and brown adipogenesis using single-nuclei RNA-seq. *Molecular Metabolism*, *74*, 101746. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2023.101746>
- Gupta, R. K., Arany, Z., Seale, P., Mepani, R. J., Ye, L., Conroe, H. M., Roby, Y. A., Kulaga, H., Reed, R. R., & Spiegelman, B. M. (2010). Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. *Nature*, *464*(7288), 619-623. <https://doi.org/10.1038/nature08816>
- Gurup, A., Yakal, S., Tarçın, G., Şahinler Ayla, S., Turan, H., Toprak, M. S., Gungor, Z. B., & Ercan, O. (2023). Effect of acute exercise on 12,13-dihydroxy-9Z-octadecenoic acid (12,13-diHOME) levels in obese male adolescents. *Clinical Endocrinology*, *99*(2), 174-181. <https://doi.org/10.1111/cen.14914>
- Gustafson, B., & Smith, U. (2006). Cytokines promote wnt signaling and inflammation and impair the

- normal differentiation and lipid accumulation in 3t3-l1 preadipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 281(14), 9507-9516. <https://doi.org/10.1074/jbc.M512077200>
- Hackett, R. A., Steptoe, A., & Kumari, M. (2014). Association of diurnal patterns in salivary cortisol with type 2 diabetes in the Whitehall II study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(12), 4625-4631. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2459>
- Haemmerle, G., Lass, A., Zimmermann, R., Gorkiewicz, G., Meyer, C., Rozman, J., Heldmaier, G., Maier, R., Theussl, C., Eder, S., Kratky, D., Wagner, E. F., Klingenspor, M., Hoefler, G., & Zechner, R. (2006). Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science (New York, N.Y.)*, 312(5774), 734-737. <https://doi.org/10.1126/science.1123965>
- Haemmerle, G., Zimmermann, R., Hayn, M., Theussl, C., Waeg, G., Wagner, E., Sattler, W., Magin, T. M., Wagner, E. F., & Zechner, R. (2002). Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(7), 4806-4815. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110355200>
- Halder, G., Dupont, S., & Piccolo, S. (2012). Transduction of mechanical and cytoskeletal cues by YAP and TAZ. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 13(9), 591-600. <https://doi.org/10.1038/nrm3416>
- Hall, J. A., Ribich, S., Christoffolete, M. A., Simovic, G., Correa-Medina, M., Patti, M. E., & Bianco, A. C. (2010). Absence of thyroid hormone activation during development underlies a permanent defect in adaptive thermogenesis. *Endocrinology*, 151(9), 4573-4582. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0511>
- Hallberg, M., Morganstein, D. L., Kiskinis, E., Shah, K., Kralli, A., Dilworth, S. M., White, R., Parker, M. G., & Christian, M. (2008). A functional interaction between RIP140 and PGC-1alpha regulates the expression of the lipid droplet protein CIDEA. *Molecular and Cellular Biology*, 28(22), 6785-6795. <https://doi.org/10.1128/MCB.00504-08>
- Haman, F., Blondin, D. P., Imbeault, M.-A., & Maneshi, A. (2010). Metabolic requirements of shivering humans. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 2(3), 1155-1168. <https://doi.org/10.2741/s124>
- Hamdy, O., Porramatikul, S., & Al-Ozairi, E. (2006). Metabolic obesity : The paradox between visceral and subcutaneous fat. *Current Diabetes Reviews*, 2(4), 367-373. <https://doi.org/10.2174/1573399810602040367>
- Hamer, M., & Stamatakis, E. (2012). Metabolically healthy obesity and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(7), 2482-2488. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3475>
- Han, D. J., Aslam, R., Misra, P. S., Chiu, F., Ojha, T., Chowdhury, A., Chan, C. K., Sung, H.-K., Yuen, D. A., & Luk, C. T. (2022). Disruption of adipocyte YAP improves glucose homeostasis in mice and decreases adipose tissue fibrosis. *Molecular Metabolism*, 66, 101594. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2022.101594>
- Han, L., Shen, W.-J., Bittner, S., Kraemer, F. B., & Azhar, S. (2017). PPARs : Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR-  $\alpha$  . *Future Cardiology*, 13(3), 259-278. <https://doi.org/10.2217/fca-2016-0059>
- Hanna, K. L., & Collins, P. F. (2015). Relationship between living alone and food and nutrient intake. *Nutrition Reviews*, 73(9), 594-611. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv024>
- Hansen, J. B., Zhang, H., Rasmussen, T. H., Petersen, R. K., Flindt, E. N., & Kristiansen, K. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor delta (Ppardelta)-mediated regulation of preadipocyte proliferation and gene expression is dependent on cAMP signaling. *The Journal*



- of *Biological Chemistry*, 276(5), 3175-3182. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005567200>
- Hanssen, M. J. W., Broeders, E., Samms, R. J., Vosselman, M. J., van der Lans, A. A. J. J., Cheng, C. C., Adams, A. C., van Marken Lichtenbelt, W. D., & Schrauwen, P. (2015). Serum FGF21 levels are associated with brown adipose tissue activity in humans. *Scientific Reports*, 5, 10275. <https://doi.org/10.1038/srep10275>
- Hansson, B., Morén, B., Fryklund, C., Vliex, L., Wasserstrom, S., Albinsson, S., Berger, K., & Stenkula, K. G. (2019). Adipose cell size changes are associated with a drastic actin remodeling. *Scientific Reports*, 9(1), 12941. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49418-0>
- Hany, T. F., Steinert, H. C., Goerres, G. W., Buck, A., & von Schulthess, G. K. (2002). PET diagnostic accuracy : Improvement with in-line PET-CT system: initial results. *Radiology*, 225(2), 575-581. <https://doi.org/10.1148/radiol.2252011568>
- Hao, Q., Yadav, R., Basse, A. L., Petersen, S., Sonne, S. B., Rasmussen, S., Zhu, Q., Lu, Z., Wang, J., Audouze, K., Gupta, R., Madsen, L., Kristiansen, K., & Hansen, J. B. (2015). Transcriptome profiling of brown adipose tissue during cold exposure reveals extensive regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 308(5), E380-392. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00277.2014>
- Hara, K., Horikoshi, M., Yamauchi, T., Yago, H., Miyazaki, O., Ebinuma, H., Imai, Y., Nagai, R., & Kadowaki, T. (2006). Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 29(6), 1357-1362. <https://doi.org/10.2337/dc05-1801>
- Hara, Y., Wakino, S., Tanabe, Y., Saito, M., Tokuyama, H., Washida, N., Tatematsu, S., Yoshioka, K., Homma, K., Hasegawa, K., Minakuchi, H., Fujimura, K., Hosoya, K., Hayashi, K., Nakayama, K., & Itoh, H. (2011). Rho and Rho-kinase activity in adipocytes contributes to a vicious cycle in obesity that may involve mechanical stretch. *Science Signaling*, 4(157), ra3. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2001227>
- Harman-Boehm, I., Blüher, M., Redel, H., Sion-Vardy, N., Ovadia, S., Avinoach, E., Shai, I., Klötting, N., Stumvoll, M., Bashan, N., & Rudich, A. (2007). Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations : Effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(6), 2240-2247. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1811>
- Harms, M., & Seale, P. (2013). Brown and beige fat : Development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*, 19(10), 1252-1263. <https://doi.org/10.1038/nm.3361>
- Hata, K., Nishimura, R., Ikeda, F., Yamashita, K., Matsubara, T., Nokubi, T., & Yoneda, T. (2003). Differential roles of Smad1 and p38 kinase in regulation of peroxisome proliferator-activating receptor gamma during bone morphogenetic protein 2-induced adipogenesis. *Molecular Biology of the Cell*, 14(2), 545-555. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-06-0356>
- He, W., Barak, Y., Hevener, A., Olson, P., Liao, D., Le, J., Nelson, M., Ong, E., Olefsky, J. M., & Evans, R. M. (2003). Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor gamma knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26), 15712-15717. <https://doi.org/10.1073/pnas.2536828100>
- Heaton, J. M. (1972). The distribution of brown adipose tissue in the human. *Journal of Anatomy*, 112(Pt 1), 35-39.
- Heikkinen, A., Bollepalli, S., & Ollikainen, M. (2022). The potential of DNA methylation as a biomarker for obesity and smoking. *Journal of Internal Medicine*, 292(3), 390-408. <https://doi.org/10.1111/joim.13496>

- Herman, M. A., Peroni, O. D., Villoria, J., Schön, M. R., Abumrad, N. A., Blüher, M., Klein, S., & Kahn, B. B. (2012). A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism. *Nature*, *484*(7394), 333-338. <https://doi.org/10.1038/nature10986>
- Heyman, R. A., Mangelsdorf, D. J., Dyck, J. A., Stein, R. B., Eichele, G., Evans, R. M., & Thaller, C. (1992). 9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell*, *68*(2), 397-406. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90479-v](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90479-v)
- Himms-Hagen, J. (2001). Does brown adipose tissue (Bat) have a role in the physiology or treatment of human obesity? *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, *2*(4), 395-401. <https://doi.org/10.1023/a:1011856617047>
- Himms-Hagen, J., Melnyk, A., Zingaretti, M. C., Ceresi, E., Barbatelli, G., & Cinti, S. (2000). Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *279*(3), C670-681. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.3.C670>
- Hinds, T. D., Kipp, Z. A., Xu, M., Yiannikouris, F. B., Morris, A. J., Stec, D. F., Wahli, W., & Stec, D. E. (2021). Adipose-specific ppar $\alpha$  knockout mice have increased lipogenesis by pask-srebp1 signaling and a polarity shift to inflammatory macrophages in white adipose tissue. *Cells*, *11*(1), 4. <https://doi.org/10.3390/cells11010004>
- Hiroshima, Y., Yamamoto, T., Watanabe, M., Baba, Y., & Shinohara, Y. (2018). Effects of cold exposure on metabolites in brown adipose tissue of rats. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, *15*, 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2018.01.005>
- Holst, D., Luquet, S., Kristiansen, K., & Grimaldi, P. A. (2003). Roles of peroxisome proliferator-activated receptors delta and gamma in myoblast transdifferentiation. *Experimental Cell Research*, *288*(1), 168-176. [https://doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00179-4](https://doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00179-4)
- Hondares, E., Iglesias, R., Giral, A., Gonzalez, F. J., Giral, M., Mampel, T., & Villarroya, F. (2011). Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *The Journal of Biological Chemistry*, *286*(15), 12983-12990. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.215889>
- Hondares, E., Mora, O., Yubero, P., Rodriguez de la Concepción, M., Iglesias, R., Giral, M., & Villarroya, F. (2006). Thiazolidinediones and rexinoids induce peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator (Pgc)-1 $\alpha$  gene transcription : An autoregulatory loop controls PGC-1 $\alpha$  expression in adipocytes via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivation. *Endocrinology*, *147*(6), 2829-2838. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0070>
- Hondares, E., Rosell, M., Díaz-Delfín, J., Olmos, Y., Monsalve, M., Iglesias, R., Villarroya, F., & Giral, M. (2011). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (Ppar $\alpha$ ) induces PPAR $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) gene expression and contributes to thermogenic activation of brown fat : Involvement of PRDM16. *The Journal of Biological Chemistry*, *286*(50), 43112-43122. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.252775>
- Hondares, E., Rosell, M., Gonzalez, F. J., Giral, M., Iglesias, R., & Villarroya, F. (2010). Hepatic FGF21 expression is induced at birth via PPAR $\alpha$  in response to milk intake and contributes to thermogenic activation of neonatal brown fat. *Cell Metabolism*, *11*(3), 206-212. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.02.001>
- Hong, K. Y., Bae, H., Park, I., Park, D.-Y., Kim, K. H., Kubota, Y., Cho, E.-S., Kim, H., Adams, R. H., Yoo, O.-J., & Koh, G. Y. (2015). Perilipin+ embryonic preadipocytes actively proliferate along growing vasculatures for adipose expansion. *Development (Cambridge, England)*, *142*(15), 2623-2632. <https://doi.org/10.1242/dev.125336>
- Hopkins, B. D., Goncalves, M. D., & Cantley, L. C. (2016). Obesity and cancer mechanisms : Cancer

- metabolism. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 34(35), 4277-4283. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.67.9712>
- Hossain, M. G., Iwata, T., Mizusawa, N., Shima, S. W. N., Okutsu, T., Ishimoto, K., & Yoshimoto, K. (2010). Compressive force inhibits adipogenesis through COX-2-mediated down-regulation of PPAR $\gamma$ 2 and C/EBP $\alpha$ . *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(3), 297-303. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.09.003>
- Hou, L., Shi, J., Cao, L., Xu, G., Hu, C., & Wang, C. (2017). Pig has no uncoupling protein 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 487(4), 795-800. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.04.118>
- Hu, W., Jiang, C., Kim, M., Xiao, Y., Richter, H. J., Guan, D., Zhu, K., Krusen, B. M., Roberts, A. N., Miller, J., Steger, D. J., & Lazar, M. A. (2022). Isoform-specific functions of PPAR $\gamma$  in gene regulation and metabolism. *Genes & Development*, 36(5-6), 300-312. <https://doi.org/10.1101/gad.349232.121>
- Huang-Doran, I., Zhang, C.-Y., & Vidal-Puig, A. (2017). Extracellular vesicles : Novel mediators of cell communication in metabolic disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 28(1), 3-18. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.10.003>
- Huang, H., Song, T.-J., Li, X., Hu, L., He, Q., Liu, M., Lane, M. D., & Tang, Q.-Q. (2009). BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12670-12675. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906266106>
- Hunter, G. R., Weinsier, R. L., Bamman, M. M., & Larson, D. E. (1998). A role for high intensity exercise on energy balance and weight control. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 22(6), 489-493. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800629>
- Ikeda, K., & Yamada, T. (2022). Adipose tissue thermogenesis by calcium futile cycling. *The Journal of Biochemistry*, 172(4), 197-203. <https://doi.org/10.1093/jb/mvac055>
- Iizuka, K., Bruick, R. K., Liang, G., Horton, J. D., & Uyeda, K. (2004). Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(19), 7281-7286. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401516101>
- Ikeda, K., Kang, Q., Yoneshiro, T., Camporez, J. P., Maki, H., Homma, M., Shinoda, K., Chen, Y., Lu, X., Maretich, P., Tajima, K., Ajuwon, K. M., Soga, T., & Kajimura, S. (2017). UCP1-independent signaling involving SERCA2b-mediated calcium cycling regulates beige fat thermogenesis and systemic glucose homeostasis. *Nature Medicine*, 23(12), 1454-1465. <https://doi.org/10.1038/nm.4429>
- Ikeda, K., Maretich, P., & Kajimura, S. (2018). The common and distinct features of brown and beige adipocytes. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 29(3), 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.01.001>
- Imai, T., Takakuwa, R., Marchand, S., Dentz, E., Bornert, J.-M., Messaddeq, N., Wendling, O., Mark, M., Desvergne, B., Wahli, W., Chambon, P., & Metzger, D. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is required in mature white and brown adipocytes for their survival in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(13), 4543-4547. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400356101>
- Imhof, B. A., & Aurrand-Lions, M. (2006). Angiogenesis and inflammation face off. *Nature Medicine*, 12(2), 171-172. <https://doi.org/10.1038/nm0206-171>
- Ipsen, D. H., Lykkesfeldt, J., & Tveden-Nyborg, P. (2018). Molecular mechanisms of hepatic lipid

- accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 75(18), 3313-3327. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2860-6>
- Ishibashi, S., Yamashita, S., Arai, H., Araki, E., Yokote, K., Suganami, H., Fruchart, J.-C., Kodama, T., & K-877-04 Study Group. (2016). Effects of K-877, a novel selective PPAR $\alpha$  modulator (Sppar $\alpha$ ), in dyslipidaemic patients : A randomized, double blind, active- and placebo-controlled, phase 2 trial. *Atherosclerosis*, 249, 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.029>
- Ishii, S., Iizuka, K., Miller, B. C., & Uyeda, K. (2004). Carbohydrate response element binding protein directly promotes lipogenic enzyme gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15597-15602. <https://doi.org/10.1073/pnas.0405238101>
- Issemann, I., & Green, S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 347(6294), 645-650. <https://doi.org/10.1038/347645a0>
- Iwase, M., Tokiwa, S., Seno, S., Mukai, T., Yeh, Y.-S., Takahashi, H., Nomura, W., Jheng, H.-F., Matsumura, S., Kusudo, T., Osato, N., Matsuda, H., Inoue, K., Kawada, T., & Goto, T. (2020). Glycerol kinase stimulates uncoupling protein 1 expression by regulating fatty acid metabolism in beige adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 295(20), 7033-7045. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011658>
- Jackson, A. S., Stanforth, P. R., Gagnon, J., Rankinen, T., Leon, A. S., Rao, D. C., Skinner, J. S., Bouchard, C., & Wilmore, J. H. (2002). The effect of sex, age and race on estimating percentage body fat from body mass index : The Heritage Family Study. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 26(6), 789-796. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802006>
- Jackson, R. S., Creemers, J. W., Ohagi, S., Raffin-Sanson, M. L., Sanders, L., Montague, C. T., Hutton, J. C., & O'Rahilly, S. (1997). Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nature Genetics*, 16(3), 303-306. <https://doi.org/10.1038/ng0797-303>
- Jehan, S., Auguste, E., Pandi-Perumal, S. R., Kalinowski, J., Myers, A. K., Zizi, F., Rajanna, M. G., Jean-Louis, G., & McFarlane, S. I. (2017). Depression, obstructive sleep apnea and psychosocial health. *Sleep Medicine and Disorders: International Journal*, 1(3), 00012.
- Jehan, S., Zizi, F., Pandi-Perumal, S. R., Wall, S., Auguste, E., Myers, A. K., Jean-Louis, G., & McFarlane, S. I. (2017). Obstructive sleep apnea and obesity : Implications for public health. *Sleep Medicine and Disorders: International Journal*, 1(4), 00019.
- Jensen, M. D. (2008). Role of body fat distribution and the metabolic complications of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(11 Suppl 1), S57-63. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1585>
- Jeong, J. H., Chang, J. S., & Jo, Y.-H. (2018). Intracellular glycolysis in brown adipose tissue is essential for optogenetically induced nonshivering thermogenesis in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 6672. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25265-3>
- Jimenez, M. A., Akerblad, P., Sigvardsson, M., & Rosen, E. D. (2007). Critical role for Ebf1 and Ebf2 in the adipogenic transcriptional cascade. *Molecular and Cellular Biology*, 27(2), 743-757. <https://doi.org/10.1128/MCB.01557-06>
- Jitrapakdee, S., Slawik, M., Medina-Gomez, G., Campbell, M., Wallace, J. C., Sethi, J. K., O'rahilly, S., & Vidal-Puig, A. J. (2005). The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma regulates murine pyruvate carboxylase gene expression in vivo and in vitro. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(29), 27466-27476. <https://doi.org/10.1074/jbc.M503836200>

- Joe, A. W. B., Yi, L., Natarajan, A., Le Grand, F., So, L., Wang, J., Rudnicki, M. A., & Rossi, F. M. V. (2010). Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nature Cell Biology*, *12*(2), 153-163. <https://doi.org/10.1038/ncb2015>
- Jones, J. R., Barrick, C., Kim, K.-A., Lindner, J., Blondeau, B., Fujimoto, Y., Shiota, M., Kesterson, R. A., Kahn, B. B., & Magnuson, M. A. (2005). Deletion of PPAR $\gamma$  in adipose tissues of mice protects against high fat diet-induced obesity and insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(17), 6207-6212. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306743102>
- Jones, S. A., Gogoi, P., Ruprecht, J. J., King, M. S., Lee, Y., Zögg, T., Pardon, E., Chand, D., Steimle, S., Copeman, D. M., Cotrim, C. A., Steyaert, J., Crichton, P. G., Moiseenkova-Bell, V., & Kunji, E. R. S. (2023). Structural basis of purine nucleotide inhibition of human uncoupling protein 1. *Science Advances*, *9*(22), eadh4251. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adh4251>
- Jones, S. A., Ruprecht, J. J., Crichton, P. G., & Kunji, E. R. S. (2024). Structural mechanisms of mitochondrial uncoupling protein 1 regulation in thermogenesis. *Trends in Biochemical Sciences*, *49*(6), 506-519. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2024.03.005>
- Jung, S. M., Doxsey, W. G., Le, J., Haley, J. A., Mazuecos, L., Luciano, A. K., Li, H., Jang, C., & Guertin, D. A. (2021). In vivo isotope tracing reveals the versatility of glucose as a brown adipose tissue substrate. *Cell Reports*, *36*(4), 109459. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109459>
- Kadereit, B., Kumar, P., Wang, W.-J., Miranda, D., Snapp, E. L., Severina, N., Torregroza, I., Evans, T., & Silver, D. L. (2008). Evolutionarily conserved gene family important for fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(1), 94-99. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708579105>
- Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., & Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(7), 1784-1792. <https://doi.org/10.1172/JCI29126>
- Kahn, B. B., Rosen, A. S., Bak, J. F., Andersen, P. H., Damsbo, P., Lund, S., & Pedersen, O. (1992). Expression of GLUT1 and GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle of humans with insulin-dependent diabetes mellitus : Regulatory effects of metabolic factors. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *74*(5), 1101-1109. <https://doi.org/10.1210/jcem.74.5.1569156>
- Kajimura, S., Seale, P., Kubota, K., Lunsford, E., Frangioni, J. V., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2009). Initiation of myoblast to brown fat switch by a PRDM16-C/EBP-beta transcriptional complex. *Nature*, *460*(7259), 1154-1158. <https://doi.org/10.1038/nature08262>
- Kajimura, S., Seale, P., Tomaru, T., Erdjument-Bromage, H., Cooper, M. P., Ruas, J. L., Chin, S., Tempst, P., Lazar, M. A., & Spiegelman, B. M. (2008). Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex. *Genes & Development*, *22*(10), 1397-1409. <https://doi.org/10.1101/gad.1666108>
- Kalliora, C., Kyriazis, I. D., Oka, S.-I., Lieu, M. J., Yue, Y., Area-Gomez, E., Pol, C. J., Tian, Y., Mizushima, W., Chin, A., Scerbo, D., Schulze, P. C., Civelek, M., Sadoshima, J., Madesh, M., Goldberg, I. J., & Drosatos, K. (2019). Dual peroxisome-proliferator-activated-receptor- $\alpha/\gamma$  activation inhibits SIRT1-PGC1 $\alpha$  axis and causes cardiac dysfunction. *JCI Insight*, *5*(17), e129556, 129556. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.129556>
- Kanda, H., Tateya, S., Tamori, Y., Kotani, K., Hiasa, K., Kitazawa, R., Kitazawa, S., Miyachi, H., Maeda, S., Egashira, K., & Kasuga, M. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(6), 1494-1505. <https://doi.org/10.1172/JCI26498>
- Karastergiou, K., & Fried, S. K. (2017). Cellular mechanisms driving sex differences in adipose tissue

- biology and body shape in humans and mouse models. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1043, 29-51. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3_3)
- Kawaguchi, T., Osatomi, K., Yamashita, H., Kabashima, T., & Uyeda, K. (2002). Mechanism for fatty acid « sparing » effect on glucose-induced transcription : Regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(6), 3829-3835. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107895200>
- Kawaguchi, T., Takenoshita, M., Kabashima, T., & Uyeda, K. (2001). Glucose and cAMP regulate the L-type pyruvate kinase gene by phosphorylation/dephosphorylation of the carbohydrate response element binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(24), 13710-13715. <https://doi.org/10.1073/pnas.231370798>
- Kazak, L., Chouchani, E. T., Jedrychowski, M. P., Erickson, B. K., Shinoda, K., Cohen, P., Vetrivelan, R., Lu, G. Z., Laznik-Bogoslavski, D., Hasenfuss, S. C., Kajimura, S., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2015). A creatine-driven substrate cycle enhances energy expenditure and thermogenesis in beige fat. *Cell*, 163(3), 643-655. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.035>
- Kazantzis, M., & Stahl, A. (2012). Fatty acid transport proteins, implications in physiology and disease. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1821(5), 852-857. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2011.09.010>
- Kelley, D. E., Thaete, F. L., Troost, F., Huwe, T., & Goodpaster, B. H. (2000). Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 278(5), E941-948. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.5.E941>
- Kenmochi, M., Kawarasaki, S., Takizawa, S., Okamura, K., Goto, T., & Uchida, K. (2022). Involvement of mechano-sensitive Piezo1 channel in the differentiation of brown adipocytes. *The Journal of Physiological Sciences: JPS*, 72(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12576-022-00837-1>
- Kersten, S., Seydoux, J., Peters, J. M., Gonzalez, F. J., Desvergne, B., & Wahli, W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *The Journal of Clinical Investigation*, 103(11), 1489-1498. <https://doi.org/10.1172/JCI6223>
- Khan, T., Muise, E. S., Iyengar, P., Wang, Z. V., Chandalia, M., Abate, N., Zhang, B. B., Bonaldo, P., Chua, S., & Scherer, P. E. (2009). Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis : Role of collagen VI. *Molecular and Cellular Biology*, 29(6), 1575-1591. <https://doi.org/10.1128/MCB.01300-08>
- Khedoe, P. P. S. J., Hoeke, G., Kooijman, S., Dijk, W., Buijs, J. T., Kersten, S., Havekes, L. M., Hiemstra, P. S., Berbée, J. F. P., Boon, M. R., & Rensen, P. C. N. (2015). Brown adipose tissue takes up plasma triglycerides mostly after lipolysis. *Journal of Lipid Research*, 56(1), 51-59. <https://doi.org/10.1194/jlr.M052746>
- Kiskinis, E., Chatzeli, L., Curry, E., Kaforou, M., Frontini, A., Cinti, S., Montana, G., Parker, M. G., & Christian, M. (2014). RIP140 represses the « brown-in-white » adipocyte program including a futile cycle of triacylglycerol breakdown and synthesis. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 28(3), 344-356. <https://doi.org/10.1210/me.2013-1254>
- Klingenberg, M. (2010). Wanderings in bioenergetics and biomembranes. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1797(6-7), 579-594. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.02.012>
- Ko, K. D., Kim, K. K., & Lee, K. R. (2017). Does weight gain associated with thiazolidinedione use negatively affect cardiometabolic health? *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*, 26(2), 102-106. <https://doi.org/10.7570/jomes.2017.26.2.102>
- Kohjima, M., Higuchi, N., Kato, M., Kotoh, K., Yoshimoto, T., Fujino, T., Yada, M., Yada, R., Harada, N., Enjoji, M., Takayanagi, R., & Nakamuta, M. (2008). SREBP-1c, regulated by the insulin and

- AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.21.4.507>
- Kossmehl, P., Shakibaei, M., Cogoli, A., Infanger, M., Curcio, F., Schönberger, J., Eilles, C., Bauer, J., Pickenhahn, H., Schulze-Tanzil, G., Paul, M., & Grimm, D. (2003). Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways. *Endocrinology*, *144*(9), 4172-4179. <https://doi.org/10.1210/en.2002-0171>
- Kratz, M., Coats, B. R., Hisert, K. B., Hagman, D., Mutskov, V., Peris, E., Schoenfelt, K. Q., Kuzma, J. N., Larson, I., Billing, P. S., Landerholm, R. W., Crouthamel, M., Gozal, D., Hwang, S., Singh, P. K., & Becker, L. (2014). Metabolic dysfunction drives a mechanistically distinct proinflammatory phenotype in adipose tissue macrophages. *Cell Metabolism*, *20*(4), 614-625. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.08.010>
- Kristóf, E., Klusóczki, Á., Veress, R., Shaw, A., Combi, Z. S., Varga, K., Győry, F., Balajthy, Z., Bai, P., Bacso, Z., & Fésüs, L. (2019). Interleukin-6 released from differentiating human beige adipocytes improves browning. *Experimental Cell Research*, *377*(1-2), 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.02.015>
- Kroll, C., Mastroeni, S. S. B. S., Czarnobay, S. A., Ekwaru, J. P., Veugelers, P. J., & Mastroeni, M. F. (2017). The accuracy of neck circumference for assessing overweight and obesity : A systematic review and meta-analysis. *Annals of Human Biology*, *44*(8), 667-677. <https://doi.org/10.1080/03014460.2017.1390153>
- Kroon, T., Harms, M., Maurer, S., Bonnet, L., Alexandersson, I., Lindblom, A., Ahnmark, A., Nilsson, D., Gennemark, P., O'Mahony, G., Osinski, V., McNamara, C., & Boucher, J. (2020). PPAR $\gamma$  and PPAR $\alpha$  synergize to induce robust browning of white fat in vivo. *Molecular Metabolism*, *36*, 100964. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.02.007>
- Kulterer, O. C., Herz, C. T., Prager, M., Schmöltzer, C., Langer, F. B., Prager, G., Marculescu, R., Kautzky-Willer, A., Hacker, M., Haug, A. R., & Kiefer, F. W. (2022). Brown adipose tissue prevalence is lower in obesity but its metabolic activity is intact. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 858417. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.858417>
- Kunji, E. R. S., & Ruprecht, J. J. (2020). The mitochondrial ADP/ATP carrier exists and functions as a monomer. *Biochemical Society Transactions*, *48*(4), 1419-1432. <https://doi.org/10.1042/BST20190933>
- Kursawe, R., Caprio, S., Giannini, C., Narayan, D., Lin, A., D'Adamo, E., Shaw, M., Pierpont, B., Cushman, S. W., & Shulman, G. I. (2013). Decreased transcription of ChREBP- $\alpha/\beta$  isoforms in abdominal subcutaneous adipose tissue of obese adolescents with prediabetes or early type 2 diabetes : Associations with insulin resistance and hyperglycemia. *Diabetes*, *62*(3), 837-844. <https://doi.org/10.2337/db12-0889>
- Kusudo, T., Wang, Z., Mizuno, A., Suzuki, M., & Yamashita, H. (2012). TRPV4 deficiency increases skeletal muscle metabolic capacity and resistance against diet-induced obesity. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *112*(7), 1223-1232. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01070.2011>
- Labbé, S. M., Caron, A., Bakan, I., Laplante, M., Carpentier, A. C., Lecomte, R., & Richard, D. (2015). In vivo measurement of energy substrate contribution to cold-induced brown adipose tissue thermogenesis. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *29*(5), 2046-2058. <https://doi.org/10.1096/fj.14-266247>
- Lafontan, M., Moro, C., Berlan, M., Crampes, F., Sengenès, C., & Galitzky, J. (2008). Control of lipolysis by natriuretic peptides and cyclic GMP. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, *19*(4), 130-137. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2007.11.006>
- Lagarde, D., Jeanson, Y., Barreau, C., Moro, C., Peyriga, L., Cahoreau, E., Guissard, C., Arnaud, E.,

- Galinier, A., Bouzier-Sore, A.-K., Pellerin, L., Chouchani, E. T., Pénicaud, L., Ader, I., Portais, J.-C., Casteilla, L., & Carrière, A. (2021). Lactate fluxes mediated by the monocarboxylate transporter-1 are key determinants of the metabolic activity of beige adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, *296*, 100137. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.016303>
- Lahesmaa, M., Orava, J., Schalin-Jääntti, C., Soinio, M., Hannukainen, J. C., Nojonen, T., Kirjavainen, A., Iida, H., Kudomi, N., Enerbäck, S., Virtanen, K. A., & Nuutila, P. (2014). Hyperthyroidism increases brown fat metabolism in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *99*(1), E28-35. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2312>
- Laiglesia, L. M., Escoté, X., Sáinz, N., Felix-Soriano, E., Santamaría, E., Collantes, M., Fernández-Galilea, M., Colón-Mesa, I., Martínez-Fernández, L., Quesada-López, T., Quesada-Vázquez, S., Rodríguez-Ortigosa, C., Arbones-Mainar, J. M., Valverde, Á. M., Martínez, J. A., Dalli, J., Herrero, L., Lorente-Cebrián, S., Villarroya, F., & Moreno-Aliaga, M. J. (2023). Maresin 1 activates brown adipose tissue and promotes browning of white adipose tissue in mice. *Molecular Metabolism*, *74*, 101749. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2023.101749>
- Laloi, M., Klein, M., Riesmeier, J. W., Müller-Röber, B., Fleury, C., Bouillaud, F., & Ricquier, D. (1997). A plant cold-induced uncoupling protein. *Nature*, *389*(6647), 135-136. <https://doi.org/10.1038/38156>
- Lasar, D., Rosenwald, M., Kiehlmann, E., Balaz, M., Tall, B., Opitz, L., Lidell, M. E., Zamboni, N., Krznar, P., Sun, W., Varga, L., Stefanicka, P., Ukropec, J., Nuutila, P., Virtanen, K., Amri, E.-Z., Enerbäck, S., Wahli, W., & Wolfrum, C. (2018). Peroxisome proliferator activated receptor gamma controls mature brown adipocyte inducibility through glycerol kinase. *Cell Reports*, *22*(3), 760-773. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.12.067>
- Le Lay, S., Briand, N., & Dugail, I. (2015). Adipocyte size fluctuation, mechano-active lipid droplets and caveolae. *Adipocyte*, *4*(2), 158-160. <https://doi.org/10.4161/21623945.2014.973774>
- Leblanc, J., & Pouliot, M. (1964). Importance of noradrenaline in cold adaptation. *The American Journal of Physiology*, *207*, 853-856. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1964.207.4.853>
- Lee, C. M. Y., Huxley, R. R., Wildman, R. P., & Woodward, M. (2008). Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI : A meta-analysis. *Journal of Clinical Epidemiology*, *61*(7), 646-653. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.08.012>
- Lee, J., Ellis, J. M., & Wolfgang, M. J. (2015). Adipose fatty acid oxidation is required for thermogenesis and potentiates oxidative stress-induced inflammation. *Cell Reports*, *10*(2), 266-279. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.12.023>
- Lee, M.-J., Wu, Y., & Fried, S. K. (2013). Adipose tissue heterogeneity : Implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Molecular Aspects of Medicine*, *34*(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.001>
- Lee, M.-W., Odegaard, J. I., Mukundan, L., Qiu, Y., Molofsky, A. B., Nussbaum, J. C., Yun, K., Locksley, R. M., & Chawla, A. (2015). Activated type 2 innate lymphoid cells regulate beige fat biogenesis. *Cell*, *160*(1-2), 74-87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.011>
- Lee, P., Bova, R., Schofield, L., Bryant, W., Dieckmann, W., Slattery, A., Govendir, M. A., Emmett, L., & Greenfield, J. R. (2016). Brown adipose tissue exhibits a glucose-responsive thermogenic biorhythm in humans. *Cell Metabolism*, *23*(4), 602-609. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.02.007>
- Lee, P., Linderman, J. D., Smith, S., Brychta, R. J., Wang, J., Idelson, C., Perron, R. M., Werner, C. D., Phan, G. Q., Kammula, U. S., Kebebew, E., Pacak, K., Chen, K. Y., & Celi, F. S. (2014). Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metabolism*, *19*(2), 302-309. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.017>



- Lee, R. G. (1989). Nonalcoholic steatohepatitis : A study of 49 patients. *Human Pathology*, 20(6), 594-598. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(89\)90249-9](https://doi.org/10.1016/0046-8177(89)90249-9)
- Lee, Y., Willers, C., Kunji, E. R. S., & Crichton, P. G. (2015). Uncoupling protein 1 binds one nucleotide per monomer and is stabilized by tightly bound cardiolipin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(22), 6973-6978. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503833112>
- Lee, Y.-H., Petkova, A. P., & Granneman, J. G. (2013). Identification of an adipogenic niche for adipose tissue remodeling and restoration. *Cell Metabolism*, 18(3), 355-367. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.08.003>
- Lee, Y.-H., Petkova, A. P., Mottillo, E. P., & Granneman, J. G. (2012). In vivo identification of bipotential adipocyte progenitors recruited by  $\beta$ 3-adrenoceptor activation and high-fat feeding. *Cell Metabolism*, 15(4), 480-491. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.03.009>
- Lefterova, M. I., Zhang, Y., Steger, D. J., Schupp, M., Schug, J., Cristancho, A., Feng, D., Zhuo, D., Stoekert, C. J., Liu, X. S., & Lazar, M. A. (2008). PPARgamma and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale. *Genes & Development*, 22(21), 2941-2952. <https://doi.org/10.1101/gad.1709008>
- Lehmann, J. M., Moore, L. B., Smith-Oliver, T. A., Wilkison, W. O., Willson, T. M., & Kliewer, S. A. (1995). An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *The Journal of Biological Chemistry*, 270(22), 12953-12956. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.22.12953>
- Leiria, L. O., & Tseng, Y.-H. (2020). Lipidomics of brown and white adipose tissue : Implications for energy metabolism. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(10), 158788. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158788>
- Leiria, L. O., Wang, C.-H., Lynes, M. D., Yang, K., Shamsi, F., Sato, M., Sugimoto, S., Chen, E. Y., Bussberg, V., Narain, N. R., Sansbury, B. E., Darcy, J., Huang, T. L., Kodani, S. D., Sakaguchi, M., Rocha, A. L., Schulz, T. J., Bartelt, A., Hotamisligil, G. S., ... Tseng, Y.-H. (2019). 12-lipoxygenase regulates cold adaptation and glucose metabolism by producing the omega-3 lipid 12-hepe from brown fat. *Cell Metabolism*, 30(4), 768-783.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.001>
- Leitner, B. P., Huang, S., Brychta, R. J., Duckworth, C. J., Baskin, A. S., McGehee, S., Tal, I., Dieckmann, W., Gupta, G., Kolodny, G. M., Pacak, K., Herscovitch, P., Cypess, A. M., & Chen, K. Y. (2017). Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(32), 8649-8654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705287114>
- Leone, T. C., Weinheimer, C. J., & Kelly, D. P. (1999). A critical role for the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (Pparalpha) in the cellular fasting response : The PPARalpha-null mouse as a model of fatty acid oxidation disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(13), 7473-7478. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.13.7473>
- Lepper, C., & Fan, C.-M. (2010). Inducible lineage tracing of Pax7-descendant cells reveals embryonic origin of adult satellite cells. *Genesis (New York, N.Y.: 2000)*, 48(7), 424-436. <https://doi.org/10.1002/dvg.20630>
- Lever, J. D., Nnodim, J. O., & Symons, D. (1985). Arteriovenous anastomoses in interscapular brown adipose tissue in the rat. *Journal of Anatomy*, 143, 207-210.
- Ley, C. J., Lees, B., & Stevenson, J. C. (1992). Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(5), 950-954. <https://doi.org/10.1093/ajcn/55.5.950>

- Li, X., Pham, K., Ysaguirre, J., Mahmud, I., Tan, L., Wei, B., Shao, L. J., Elizondo, M., Habib, R., Elizondo, F., Sesaki, H., Lorenzi, P. L., & Sun, K. (2024). Mechanistic insights into metabolic function of dynamin-related protein 1(Drp1). *Journal of Lipid Research*, 100633. <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2024.100633>
- Li, Y., Fromme, T., Schweizer, S., Schöttl, T., & Klingenspor, M. (2014). Taking control over intracellular fatty acid levels is essential for the analysis of thermogenic function in cultured primary brown and brite/beige adipocytes. *EMBO Reports*, 15(10), 1069-1076. <https://doi.org/10.15252/embr.201438775>
- Li, Y., Ping, X., Zhang, Y., Li, G., Zhang, T., Chen, G., Ma, X., Wang, D., & Xu, L. (2021). Comparative transcriptome profiling of cold exposure and  $\beta$  3-ar agonist cl316,243-induced browning of white fat. *Frontiers in Physiology*, 12, 667698. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.667698>
- Lijnen, H. R. (2008). Angiogenesis and obesity. *Cardiovascular Research*, 78(2), 286-293. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvm007>
- Lin, J., Cao, C., Tao, C., Ye, R., Dong, M., Zheng, Q., Wang, C., Jiang, X., Qin, G., Yan, C., Li, K., Speakman, J. R., Wang, Y., Jin, W., & Zhao, J. (2017). Cold adaptation in pigs depends on UCP3 in beige adipocytes. *Journal of Molecular Cell Biology*, 9(5), 364-375. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjx018>
- Lin, J., Handschin, C., & Spiegelman, B. M. (2005). Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metabolism*, 1(6), 361-370. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.05.004>
- Lin, J., Wu, P.-H., Tarr, P. T., Lindenberg, K. S., St-Pierre, J., Zhang, C.-Y., Mootha, V. K., Jäger, S., Vianna, C. R., Reznick, R. M., Cui, L., Manieri, M., Donovan, M. X., Wu, Z., Cooper, M. P., Fan, M. C., Rohas, L. M., Zavacki, A. M., Cinti, S., ... Spiegelman, B. M. (2004). Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1alpha null mice. *Cell*, 119(1), 121-135. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.013>
- Liu, L., & Clipstone, N. A. (2007). Prostaglandin F2alpha inhibits adipocyte differentiation via a G alpha q-calcium-calcineurin-dependent signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 100(1), 161-173. <https://doi.org/10.1002/jcb.21044>
- Liu, X., Rossmeisl, M., McClaine, J., Riachi, M., Harper, M.-E., & Kozak, L. P. (2003). Paradoxical resistance to diet-induced obesity in UCP1-deficient mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(3), 399-407. <https://doi.org/10.1172/JCI15737>
- Liu, X., Wang, S., You, Y., Meng, M., Zheng, Z., Dong, M., Lin, J., Zhao, Q., Zhang, C., Yuan, X., Hu, T., Liu, L., Huang, Y., Zhang, L., Wang, D., Zhan, J., Jong Lee, H., Speakman, J. R., & Jin, W. (2015). Brown adipose tissue transplantation reverses obesity in ob/ob mice. *Endocrinology*, 156(7), 2461-2469. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1598>
- Liu, W., Liu, T., Zhao, Q., Ma, J., Jiang, J., & Shi, H. (2023). Adipose tissue-derived extracellular vesicles : A promising biomarker and therapeutic strategy for metabolic disorders. *Stem Cells International*, 2023, 9517826. <https://doi.org/10.1155/2023/9517826>
- Liu, X., Zheng, Z., Zhu, X., Meng, M., Li, L., Shen, Y., Chi, Q., Wang, D., Zhang, Z., Li, C., Li, Y., Xue, Y., Speakman, J. R., & Jin, W. (2013). Brown adipose tissue transplantation improves whole-body energy metabolism. *Cell Research*, 23(6), 851-854. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.64>
- Lodhi, I. J., Yin, L., Jensen-Urstad, A. P. L., Funai, K., Coleman, T., Baird, J. H., El Ramahi, M. K., Razani, B., Song, H., Fu-Hsu, F., Turk, J., & Semenkovich, C. F. (2012). Inhibiting adipose tissue lipogenesis reprograms thermogenesis and PPAR $\gamma$  activation to decrease diet-induced obesity. *Cell Metabolism*, 16(2), 189-201. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.06.013>
- Lubrano-Berthelie, C., Dubern, B., Lacorte, J.-M., Picard, F., Shapiro, A., Zhang, S., Bertrais, S.,

- Hercberg, S., Basdevant, A., Clement, K., & Vaisse, C. (2006). Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults : Prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *91*(5), 1811-1818. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-1411>
- Ludwig, J., Viggiano, T. R., McGill, D. B., & Oh, B. J. (1980). Nonalcoholic steatohepatitis : Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic Proceedings*, *55*(7), 434-438.
- Lumeng, C. N., Bodzin, J. L., & Saltiel, A. R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation*, *117*(1), 175-184. <https://doi.org/10.1172/JCI29881>
- Lumeng, C. N., Deyoung, S. M., Bodzin, J. L., & Saltiel, A. R. (2007). Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*, *56*(1), 16-23. <https://doi.org/10.2337/db06-1076>
- Lundgren, P., Sharma, P. V., Dohnalová, L., Coleman, K., Uhr, G. T., Kircher, S., Litichevskiy, L., Bahnsen, K., Descamps, H. C., Demetriadou, C., Chan, J., Chellappa, K., Cox, T. O., Heyman, Y., Pather, S. R., Shoffler, C., Petucci, C., Shalem, O., Raj, A., ... Thaiss, C. A. (2023). A subpopulation of lipogenic brown adipocytes drives thermogenic memory. *Nature Metabolism*, *5*(10), 1691-1705. <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00893-w>
- Lynes, M. D., Leiria, L. O., Lundh, M., Bartelt, A., Shamsi, F., Huang, T. L., Takahashi, H., Hirshman, M. F., Schlein, C., Lee, A., Baer, L. A., May, F. J., Gao, F., Narain, N. R., Chen, E. Y., Kiebish, M. A., Cypess, A. M., Blüher, M., Goodyear, L. J., ... Tseng, Y.-H. (2017). The cold-induced lipokine 12,13-diHOME promotes fatty acid transport into brown adipose tissue. *Nature Medicine*, *23*(5), 631-637. <https://doi.org/10.1038/nm.4297>
- Lyu, X., Yan, K., Wang, X., Xu, H., Guo, X., Zhu, H., Pan, H., Wang, L., Yang, H., & Gong, F. (2022). A novel anti-obesity mechanism for liraglutide by improving adipose tissue leptin resistance in high-fat diet-fed obese mice. *Endocrine Journal*, *69*(10), 1233-1244. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ21-0802>
- Ma, L., Gilani, A., Yi, Q., & Tang, L. (2022). Micrnas as mediators of adipose thermogenesis and potential therapeutic targets for obesity. *Biology*, *11*(11), 1657. <https://doi.org/10.3390/biology11111657>
- Madsen, L., Pedersen, L. M., Lillefosse, H. H., Fjaere, E., Bronstad, I., Hao, Q., Petersen, R. K., Hallenborg, P., Ma, T., De Matteis, R., Araujo, P., Mercader, J., Bonet, M. L., Hansen, J. B., Cannon, B., Nedergaard, J., Wang, J., Cinti, S., Voshol, P., ... Kristiansen, K. (2010). UCP1 induction during recruitment of brown adipocytes in white adipose tissue is dependent on cyclooxygenase activity. *PloS One*, *5*(6), e11391. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011391>
- Maeda, N., Shimomura, I., Kishida, K., Nishizawa, H., Matsuda, M., Nagaretani, H., Furuyama, N., Kondo, H., Takahashi, M., Arita, Y., Komuro, R., Ouchi, N., Kihara, S., Tochino, Y., Okutomi, K., Horie, M., Takeda, S., Aoyama, T., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (2002). Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature Medicine*, *8*(7), 731-737. <https://doi.org/10.1038/nm724>
- Maniyadath, B., Zhang, Q., Gupta, R. K., & Mandrup, S. (2023). Adipose tissue at single-cell resolution. *Cell Metabolism*, *35*(3), 386-413. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.02.002>
- Marcelin, G., Ferreira, A., Liu, Y., Atlan, M., Aron-Wisnewsky, J., Pelloux, V., Botbol, Y., Ambrosini, M., Fradet, M., Rouault, C., Hénégat, C., Hulot, J.-S., Poitou, C., Torcivia, A., Nail-Barthelemy, R., Bichet, J.-C., Gautier, E. L., & Clément, K. (2017). A pdgfra-mediated switch toward cd9high adipocyte progenitors controls obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Cell Metabolism*,

25(3), 673-685. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.01.010>

- Markan, K. R., Naber, M. C., Ameka, M. K., Anderegg, M. D., Mangelsdorf, D. J., Kliewer, S. A., Mohammadi, M., & Potthoff, M. J. (2014). Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes*, *63*(12), 4057-4063. <https://doi.org/10.2337/db14-0595>
- Martínez-Fernández, L., González-Muniesa, P., Laiglesia, L. M., Sáinz, N., Prieto-Hontoria, P. L., Escoté, X., Odriozola, L., Corrales, F. J., Arbones-Mainar, J. M., Martínez, J. A., & Moreno-Aliaga, M. J. (2017). Maresin 1 improves insulin sensitivity and attenuates adipose tissue inflammation in ob/ob and diet-induced obese mice. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *31*(5), 2135-2145. <https://doi.org/10.1096/fj.201600859R>
- Masuzaki, H., Paterson, J., Shinyama, H., Morton, N. M., Mullins, J. J., Seckl, J. R., & Flier, J. S. (2001). A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, *294*(5549), 2166-2170. <https://doi.org/10.1126/science.1066285>
- Mauer, J., Chaurasia, B., Goldau, J., Vogt, M. C., Ruud, J., Nguyen, K. D., Theurich, S., Hausen, A. C., Schmitz, J., Brönneke, H. S., Estevez, E., Allen, T. L., Mesaros, A., Partridge, L., Febbraio, M. A., Chawla, A., Wunderlich, F. T., & Brüning, J. C. (2014). Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. *Nature Immunology*, *15*(5), 423-430. <https://doi.org/10.1038/ni.2865>
- Mayeuf-Louchart, A., Lancel, S., Sebti, Y., Pourcet, B., Loyens, A., Delhay, S., Duhem, C., Beauchamp, J., Ferri, L., Thorel, Q., Boulinguez, A., Zecchin, M., Dubois-Chevalier, J., Eeckhoutte, J., Vaughn, L. T., Roach, P. J., Dani, C., Pederson, B. A., Vincent, S. D., ... Duez, H. (2019). Glycogen dynamics drives lipid droplet biogenesis during brown adipocyte differentiation. *Cell Reports*, *29*(6), 1410-1418.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.073>
- Mazzucotelli, A., Viguier, N., Tiraby, C., Annicotte, J.-S., Mairal, A., Klimcakova, E., Lepin, E., Delmar, P., Dejean, S., Tavernier, G., Lefort, C., Hidalgo, J., Pineau, T., Fajas, L., Clément, K., & Langin, D. (2007). The transcriptional coactivator peroxisome proliferator activated receptor (Ppar)gamma coactivator-1 alpha and the nuclear receptor PPAR alpha control the expression of glycerol kinase and metabolism genes independently of PPAR gamma activation in human white adipocytes. *Diabetes*, *56*(10), 2467-2475. <https://doi.org/10.2337/db06-1465>
- Medina-Gomez, G., Gray, S. L., Yetukuri, L., Shimomura, K., Virtue, S., Campbell, M., Curtis, R. K., Jimenez-Linan, M., Blount, M., Yeo, G. S. H., Lopez, M., Seppänen-Laakso, T., Ashcroft, F. M., Oresic, M., & Vidal-Puig, A. (2007). PPAR gamma 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. *PLoS Genetics*, *3*(4), e64. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030064>
- Medina-Gomez, G., Virtue, S., Lelliott, C., Boiani, R., Campbell, M., Christodoulides, C., Perrin, C., Jimenez-Linan, M., Blount, M., Dixon, J., Zahn, D., Thresher, R. R., Aparicio, S., Carlton, M., Colledge, W. H., Kettunen, M. I., Seppänen-Laakso, T., Sethi, J. K., O'Rahilly, S., ... Vidal-Puig, A. (2005). The link between nutritional status and insulin sensitivity is dependent on the adipocyte-specific peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 isoform. *Diabetes*, *54*(6), 1706-1716. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1706>
- Mendez-Gutierrez, A., Aguilera, C. M., Osuna-Prieto, F. J., Martinez-Tellez, B., Rico Prados, M. C., Acosta, F. M., Llamas-Elvira, J. M., Ruiz, J. R., & Sanchez-Delgado, G. (2023). Exercise-induced changes on exerkines that might influence brown adipose tissue metabolism in young sedentary adults. *European Journal of Sport Science*, *23*(4), 625-636. <https://doi.org/10.1080/17461391.2022.2040597>
- Meriin, A. B., Zaarur, N., Roy, D., & Kandror, K. V. (2022). Egr1 plays a major role in the transcriptional

- response of white adipocytes to insulin and environmental cues. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 1003030. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1003030>
- Milagro, F. I., Campi3n, J., Cordero, P., Goyenechea, E., G3mez-Uriz, A. M., Abete, I., Zulet, M. A., & Mart3nez, J. A. (2011). A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers : DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 25(4), 1378-1389. <https://doi.org/10.1096/fj.10-170365>
- Mills, E. L., Pierce, K. A., Jedrychowski, M. P., Garrity, R., Winther, S., Vidoni, S., Yoneshiro, T., Spinelli, J. B., Lu, G. Z., Kazak, L., Banks, A. S., Haigis, M. C., Kajimura, S., Murphy, M. P., Gygi, S. P., Clish, C. B., & Chouchani, E. T. (2018). Accumulation of succinate controls activation of adipose tissue thermogenesis. *Nature*, 560(7716), 102-106. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0353-2>
- Miranda, C. S., Silva-Veiga, F. M., Santana-Oliveira, D. A., Vasques-Monteiro, I. M. L., Daleprane, J. B., & Souza-Mello, V. (2024). PPAR $\alpha/\gamma$  synergism activates UCP1-dependent and -independent thermogenesis and improves mitochondrial dynamics in the beige adipocytes of high-fat fed mice. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 117, 112253. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2023.112253>
- Miranville, A., Heeschen, C., Sengen3s, C., Curat, C. A., Busse, R., & Bouloumi3, A. (2004). Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation*, 110(3), 349-355. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000135466.16823.DO>
- Mittal, B. (2019). Subcutaneous adipose tissue & visceral adipose tissue. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(5), 571-573. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_1910\\_18](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1910_18)
- Mizuno, K., Kanda, Y., Kuroki, Y., Nishio, M., & Watanabe, Y. (2002). Stimulation of beta(3)-adrenoceptors causes phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase via a stimulatory G protein-dependent pathway in 3T3-L1 adipocytes. *British Journal of Pharmacology*, 135(4), 951-960. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704537>
- Montagner, A., Polizzi, A., Fouch3, E., Ducheix, S., Lippi, Y., Lasserre, F., Barquissau, V., R3gnier, M., Lukowicz, C., Benhamed, F., Iroz, A., Bertrand-Michel, J., Al Saati, T., Cano, P., Mselli-Lakhal, L., Mithieux, G., Rajas, F., Lagarrigue, S., Pineau, T., ... Guillou, H. (2016). Liver PPAR $\alpha$  is crucial for whole-body fatty acid homeostasis and is protective against NAFLD. *Gut*, 65(7), 1202-1214. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310798>
- Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P., Soos, M. A., Rau, H., Wareham, N. J., Sewter, C. P., Digby, J. E., Mohammed, S. N., Hurst, J. A., Cheetham, C. H., Earley, A. R., Barnett, A. H., Prins, J. B., & O'Rahilly, S. (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 387(6636), 903-908. <https://doi.org/10.1038/43185>
- Mori, S., Yamasaki, T., Sakaida, I., Takami, T., Sakaguchi, E., Kimura, T., Kurokawa, F., Maeyama, S., & Okita, K. (2004). Hepatocellular carcinoma with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of Gastroenterology*, 39(4), 391-396. <https://doi.org/10.1007/s00535-003-1308-3>
- Morigny, P., Boucher, J., Arner, P., & Langin, D. (2021). Lipid and glucose metabolism in white adipocytes : Pathways, dysfunction and therapeutics. *Nature Reviews. Endocrinology*, 17(5), 276-295. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00471-8>
- Morrison, S. F., Madden, C. J., & Tupone, D. (2014). Central neural regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy expenditure. *Cell Metabolism*, 19(5), 741-756. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.02.007>
- Mory, G., Bouillaud, F., Combes-George, M., & Ricquier, D. (1984). Noradrenaline controls the concentration of the uncoupling protein in brown adipose tissue. *FEBS Letters*, 166(2), 393-396. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)80120-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)80120-9)

- Motojima, K., Passilly, P., Peters, J. M., Gonzalez, F. J., & Latruffe, N. (1998). Expression of putative fatty acid transporter genes are regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma activators in a tissue- and inducer-specific manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(27), 16710-16714. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.27.16710>
- Mottillo, E. P., Balasubramanian, P., Lee, Y.-H., Weng, C., Kershaw, E. E., & Granneman, J. G. (2014). Coupling of lipolysis and de novo lipogenesis in brown, beige, and white adipose tissues during chronic  $\beta$ 3-adrenergic receptor activation. *Journal of Lipid Research*, 55(11), 2276-2286. <https://doi.org/10.1194/jlr.M050005>
- Mottillo, E. P., Ramseyer, V. D., & Granneman, J. G. (2018). Serca2b cycles its way to ucp1-independent thermogenesis in beige fat. *Cell Metabolism*, 27(1), 7-9. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.12.015>
- Mottillo, E. P., Shen, X. J., & Granneman, J. G. (2007). Role of hormone-sensitive lipase in beta-adrenergic remodeling of white adipose tissue. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 293(5), E1188-1197. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00051.2007>
- Müller, T. D., Blüher, M., Tschöp, M. H., & DiMarchi, R. D. (2022). Anti-obesity drug discovery : Advances and challenges. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 21(3), 201-223. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00337-8>
- Muraki, K., Iwata, Y., Katanosaka, Y., Ito, T., Ohya, S., Shigekawa, M., & Imaizumi, Y. (2003). TRPV2 is a component of osmotically sensitive cation channels in murine aortic myocytes. *Circulation Research*, 93(9), 829-838. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000097263.10220.0C>
- Muzzin, P., Revelli, J. P., Kuhne, F., Gocayne, J. D., McCombie, W. R., Venter, J. C., Giacobino, J. P., & Fraser, C. M. (1991). An adipose tissue-specific beta-adrenergic receptor. Molecular cloning and down-regulation in obesity. *The Journal of Biological Chemistry*, 266(35), 24053-24058.
- Nagi, M. A., Ahmed, H., Rezaq, M. A. A., Sangroongruangsri, S., Chaikledkaew, U., Almalki, Z., & Thavorncharoensap, M. (2024). Economic costs of obesity : A systematic review. *International Journal of Obesity (2005)*, 48(1), 33-43. <https://doi.org/10.1038/s41366-023-01398-y>
- Nagy, L., Tontonoz, P., Alvarez, J. G., Chen, H., & Evans, R. M. (1998). Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPARgamma. *Cell*, 93(2), 229-240. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81574-3](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81574-3)
- Nakamura, K., & Morrison, S. F. (2008). A thermosensory pathway that controls body temperature. *Nature Neuroscience*, 11(1), 62-71. <https://doi.org/10.1038/nn2027>
- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016 : A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet (London, England)*, 390(10113), 2627-2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). (2019). Rising rural body-mass index is the main driver of the global obesity epidemic in adults. *Nature*, 569(7755), 260-264. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1171-x>
- Neugnot, V., Moulin, G., Dubreucq, E., & Bigey, F. (2002). The lipase/acyltransferase from *Candida parapsilosis* : Molecular cloning and characterization of purified recombinant enzymes. *European Journal of Biochemistry*, 269(6), 1734-1745. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2002.02828.x>
- Newgard, C. B., An, J., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Stevens, R. D., Lien, L. F., Haqq, A. M., Shah, S.

- H., Arlotto, M., Slentz, C. A., Rochon, J., Gallup, D., Ilkayeva, O., Wenner, B. R., Yancy, W. S., Eisenson, H., Musante, G., Surwit, R. S., Millington, D. S., ... Svetkey, L. P. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metabolism*, *9*(4), 311-326. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.02.002>
- Newsholme, E. A., Beis, I., Leech, A. R., & Zammit, V. A. (1978). The role of creatine kinase and arginine kinase in muscle. *The Biochemical Journal*, *172*(3), 533-537. <https://doi.org/10.1042/bj1720533>
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., Mullany, E. C., Biryukov, S., Abbafati, C., Abera, S. F., Abraham, J. P., Abu-Rmeileh, N. M. E., Achoki, T., AlBuhairan, F. S., Alemu, Z. A., Alfonso, R., Ali, M. K., Ali, R., Guzman, N. A., ... Gakidou, E. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013 : A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet (London, England)*, *384*(9945), 766-781. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60460-8)
- Nguyen, M. T. A., Favelyukis, S., Nguyen, A.-K., Reichart, D., Scott, P. A., Jenn, A., Liu-Bryan, R., Glass, C. K., Neels, J. G., & Olefsky, J. M. (2007). A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, *282*(48), 35279-35292. <https://doi.org/10.1074/jbc.M706762200>
- Nicholls, D. G., Bernson, V. S., & Heaton, G. M. (1978). The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation. *Experientia. Supplementum*, *32*, 89-93. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-5559-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-5559-4_9)
- Nicholls, D. G., & Locke, R. M. (1984). Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiological Reviews*, *64*(1), 1-64. <https://doi.org/10.1152/physrev.1984.64.1.1>
- Nijhawans, P., Behl, T., & Bhardwaj, S. (2020). Angiogenesis in obesity. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *126*, 110103. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110103>
- Odegaard, J. I., Ricardo-Gonzalez, R. R., Goforth, M. H., Morel, C. R., Subramanian, V., Mukundan, L., Red Eagle, A., Vats, D., Brombacher, F., Ferrante, A. W., & Chawla, A. (2007). Macrophage-specific PPARgamma controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature*, *447*(7148), 1116-1120. <https://doi.org/10.1038/nature05894>
- Oflaz, F. E., Koshenov, Z., Hirtl, M., Bachkoenig, O. A., Graier, W. F., & Gottschalk, B. (2023). Synergy of uncoupling proteins (1 and 2) with mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake machinery potentiate mitochondrial uncoupling. *Cell Calcium*, *112*, 102736. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2023.102736>
- Ohno, H., Shinoda, K., Ohyama, K., Sharp, L. Z., & Kajimura, S. (2013). EHMT1 controls brown adipose cell fate and thermogenesis through the PRDM16 complex. *Nature*, *504*(7478), 163-167. <https://doi.org/10.1038/nature12652>
- Ohno, H., Shinoda, K., Spiegelman, B. M., & Kajimura, S. (2012). PPARγ agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein. *Cell Metabolism*, *15*(3), 395-404. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.019>
- Oishi, Y., Manabe, I., Tobe, K., Tsushima, K., Shindo, T., Fujiu, K., Nishimura, G., Maemura, K., Yamauchi, T., Kubota, N., Suzuki, R., Kitamura, T., Akira, S., Kadowaki, T., & Nagai, R. (2005). Krüppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation. *Cell Metabolism*, *1*(1), 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2004.11.005>
- Ojha, S., Robinson, L., Yazdani, M., Symonds, M. E., & Budge, H. (2013). Brown adipose tissue genes

- in pericardial adipose tissue of newborn sheep are downregulated by maternal nutrient restriction in late gestation. *Pediatric Research*, 74(3), 246-251.  
<https://doi.org/10.1038/pr.2013.107>
- Olshansky, S. J., Passaro, D. J., Hershov, R. C., Layden, J., Carnes, B. A., Brody, J., Hayflick, L., Butler, R. N., Allison, D. B., & Ludwig, D. S. (2005). A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *The New England Journal of Medicine*, 352(11), 1138-1145.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMSr043743>
- Omachi, A., Matsushita, Y., Kimura, K., & Saito, M. (2008). Role of uncoupling protein 1 in the anti-obesity effect of beta3-adrenergic agonist in the dog. *Research in Veterinary Science*, 85(2), 214-219. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.11.003>
- Orava, J., Nuutila, P., Lidell, M. E., Oikonen, V., Nojonen, T., Viljanen, T., Scheinin, M., Taittonen, M., Niemi, T., Enerbäck, S., & Virtanen, K. A. (2011). Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. *Cell Metabolism*, 14(2), 272-279.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.06.012>
- Osborn, O., & Olefsky, J. M. (2012). The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature Medicine*, 18(3), 363-374.  
<https://doi.org/10.1038/nm.2627>
- Ouellet, V., Labbé, S. M., Blondin, D. P., Phoenix, S., Guérin, B., Haman, F., Turcotte, E. E., Richard, D., & Carpentier, A. C. (2012). Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(2), 545-552. <https://doi.org/10.1172/JCI60433>
- Owen, B. M., Ding, X., Morgan, D. A., Coate, K. C., Bookout, A. L., Rahmouni, K., Kliewer, S. A., & Mangelsdorf, D. J. (2014). FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell Metabolism*, 20(4), 670-677.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.012>
- Owen, B. M., Mangelsdorf, D. J., & Kliewer, S. A. (2015). Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 26(1), 22-29.  
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.10.002>
- Padwal, R. S., & Majumdar, S. R. (2007). Drug treatments for obesity : Orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet (London, England)*, 369(9555), 71-77. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60033-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60033-6)
- Panic, V., Pearson, S., Banks, J., Tippetts, T. S., Velasco-Silva, J. N., Lee, S., Simcox, J., Geoghegan, G., Bensard, C. L., van Ry, T., Holland, W. L., Summers, S. A., Cox, J., Ducker, G. S., Rutter, J., & Villanueva, C. J. (2020). Mitochondrial pyruvate carrier is required for optimal brown fat thermogenesis. *eLife*, 9, e52558. <https://doi.org/10.7554/eLife.52558>
- Parra-Peralbo, E., Talamillo, A., & Barrio, R. (2021). Origin and development of the adipose tissue, a key organ in physiology and disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 786129.  
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.786129>
- Pasarica, M., Sereda, O. R., Redman, L. M., Albarado, D. C., Hymel, D. T., Roan, L. E., Rood, J. C., Burk, D. H., & Smith, S. R. (2009). Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity : Evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. *Diabetes*, 58(3), 718-725. <https://doi.org/10.2337/db08-1098>
- Pastel, E., McCulloch, L. J., Ward, R., Joshi, S., Gooding, K. M., Shore, A. C., & Kos, K. (2017). GLP-1 analogue-induced weight loss does not improve obesity-induced AT dysfunction. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 131(5), 343-353. <https://doi.org/10.1042/CS20160803>
- Pastel, E., Price, E., Sjöholm, K., McCulloch, L. J., Rittig, N., Liversedge, N., Knight, B., Møller, N.,



- Svensson, P.-A., & Kos, K. (2018). Lysyl oxidase and adipose tissue dysfunction. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 78, 118-127. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.002>
- Patsouris, D., Li, P.-P., Thapar, D., Chapman, J., Olefsky, J. M., & Neels, J. G. (2008). Ablation of CD11c-positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals. *Cell Metabolism*, 8(4), 301-309. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.015>
- Pecqueur, C., Alves-Guerra, M. C., Gelly, C., Levi-Meyrueis, C., Couplan, E., Collins, S., Ricquier, D., Bouillaud, F., & Miroux, B. (2001). Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(12), 8705-8712. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006938200>
- Pekkala, S., Wiklund, P. K., Hulmi, J. J., Ahtiainen, J. P., Horttanainen, M., Pöllänen, E., Mäkelä, K. A., Kainulainen, H., Häkkinen, K., Nyman, K., Alén, M., Herzig, K.-H., & Cheng, S. (2013). Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *The Journal of Physiology*, 591(21), 5393-5400. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.263707>
- Pellegrinelli, V., Heuvingh, J., du Roure, O., Rouault, C., Devulder, A., Klein, C., Lacasa, M., Clément, E., Lacasa, D., & Clément, K. (2014). Human adipocyte function is impacted by mechanical cues. *The Journal of Pathology*, 233(2), 183-195. <https://doi.org/10.1002/path.4347>
- Pellegrinelli, V., Peirce, V. J., Howard, L., Virtue, S., Türei, D., Senzacqua, M., Frontini, A., Dalley, J. W., Horton, A. R., Bidault, G., Severi, I., Whittle, A., Rahmouni, K., Saez-Rodriguez, J., Cinti, S., Davies, A. M., & Vidal-Puig, A. (2018). Adipocyte-secreted BMP8b mediates adrenergic-induced remodeling of the neuro-vascular network in adipose tissue. *Nature Communications*, 9(1), 4974. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07453-x>
- Peters, J. M., Lee, S. S., Li, W., Ward, J. M., Gavrilova, O., Everett, C., Reitman, M. L., Hudson, L. D., & Gonzalez, F. J. (2000). Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta(Delta). *Molecular and Cellular Biology*, 20(14), 5119-5128. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.14.5119-5128.2000>
- Petrovic, N., Walden, T. B., Shabalina, I. G., Timmons, J. A., Cannon, B., & Nedergaard, J. (2010). Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppargamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(10), 7153-7164. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.053942>
- Pflimlin, E., Bielohuby, M., Korn, M., Breitschopf, K., Lohn, M., Wohlfart, P., Konkar, A., Podeschwa, M., Bärenz, F., Pfenninger, A., Schwahn, U., Opatz, T., Reimann, M., Petry, S., & Tennagels, N. (2018). Acute and repeated treatment with 5-pahsa or 9-pahsa isomers does not improve glucose control in mice. *Cell Metabolism*, 28(2), 217-227.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.05.028>
- Phelps, N. H., Singleton, R. K., Zhou, B., Heap, R. A., Mishra, A., Bennett, J. E., Paciorek, C. J., Lhoste, V. P., Carrillo-Larco, R. M., Stevens, G. A., Rodriguez-Martinez, A., Bixby, H., Bentham, J., Di Cesare, M., Danaei, G., Rayner, A. W., Barradas-Pires, A., Cowan, M. J., Savin, S., ... Ezzati, M. (2024). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022 : A pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 403(10431), 1027-1050. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)02750-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02750-2)
- Pinckard, K. M., Shettigar, V. K., Wright, K. R., Abay, E., Baer, L. A., Vidal, P., Dewal, R. S., Das, D., Duarte-Sanmiguel, S., Hernández-Saavedra, D., Arts, P. J., Lehnig, A. C., Bussberg, V., Narain, N. R., Kiebish, M. A., Yi, F., Sparks, L. M., Goodpaster, B. H., Smith, S. R., ... Stanford, K. I. (2021). A novel endocrine role for the bat-released lipokine 12,13-dihome to mediate cardiac function. *Circulation*, 143(2), 145-159.

<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049813>

- Pisani, D. F., Barquissau, V., Chambard, J.-C., Beuzelin, D., Ghandour, R. A., Giroud, M., Mairal, A., Pagnotta, S., Cinti, S., Langin, D., & Amri, E.-Z. (2018). Mitochondrial fission is associated with UCP1 activity in human brite/beige adipocytes. *Molecular Metabolism*, *7*, 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.11.007>
- Pisani, D. F., Djedaini, M., Beranger, G. E., Elabd, C., Scheideler, M., Ailhaud, G., & Amri, E.-Z. (2011). Differentiation of human adipose-derived stem cells into « brite » (Brown-in-white) adipocytes. *Frontiers in Endocrinology*, *2*, 87. <https://doi.org/10.3389/fendo.2011.00087>
- Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., Moorman, M. A., Simonetti, D. W., Craig, S., & Marshak, D. R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science (New York, N.Y.)*, *284*(5411), 143-147. <https://doi.org/10.1126/science.284.5411.143>
- Poissonnet, C. M., Burdi, A. R., & Bookstein, F. L. (1983). Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Human Development*, *8*(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/0378-3782\(83\)90028-2](https://doi.org/10.1016/0378-3782(83)90028-2)
- Poissonnet, C. M., LaVelle, M., & Burdi, A. R. (1988). Growth and development of adipose tissue. *The Journal of Pediatrics*, *113*(1 Pt 1), 1-9. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(88\)80520-1](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(88)80520-1)
- Porter, S. A., Massaro, J. M., Hoffmann, U., Vasan, R. S., O'Donnel, C. J., & Fox, C. S. (2009). Abdominal subcutaneous adipose tissue : A protective fat depot? *Diabetes Care*, *32*(6), 1068-1075. <https://doi.org/10.2337/dc08-2280>
- Powelka, A. M., Seth, A., Virbasius, J. V., Kiskinis, E., Nicoloso, S. M., Guilherme, A., Tang, X., Straubhaar, J., Cherniack, A. D., Parker, M. G., & Czech, M. P. (2006). Suppression of oxidative metabolism and mitochondrial biogenesis by the transcriptional corepressor RIP140 in mouse adipocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(1), 125-136. <https://doi.org/10.1172/JCI26040>
- Qian, S.-W., Tang, Y., Li, X., Liu, Y., Zhang, Y.-Y., Huang, H.-Y., Xue, R.-D., Yu, H.-Y., Guo, L., Gao, H.-D., Liu, Y., Sun, X., Li, Y.-M., Jia, W.-P., & Tang, Q.-Q. (2013). BMP4-mediated brown fat-like changes in white adipose tissue alter glucose and energy homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(9), E798-807. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215236110>
- Qing, H., Desrouleaux, R., Israni-Winger, K., Mineur, Y. S., Fogelman, N., Zhang, C., Rashed, S., Palm, N. W., Sinha, R., Picciotto, M. R., Perry, R. J., & Wang, A. (2020). Origin and function of stress-induced il-6 in murine models. *Cell*, *182*(2), 372-387.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.054>
- Rachid, T. L., Penna-de-Carvalho, A., Brighenti, I., Aguila, M. B., Mandarim-de-Lacerda, C. A., & Souza-Mello, V. (2015a). Fenofibrate (PPAR $\alpha$  agonist) induces beige cell formation in subcutaneous white adipose tissue from diet-induced male obese mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *402*, 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.12.027>
- Rachid, T. L., Penna-de-Carvalho, A., Brighenti, I., Aguila, M. B., Mandarim-de-Lacerda, C. A., & Souza-Mello, V. (2015b). PPAR- $\alpha$  agonist elicits metabolically active brown adipocytes and weight loss in diet-induced obese mice. *Cell Biochemistry and Function*, *33*(4), 249-256. <https://doi.org/10.1002/cbf.3111>
- Radstake, T. R. D. J., Fransen, J., Toonen, E. J. M., Coenen, M. J. H., Eijsbouts, A. E., Donn, R., van den Hoogen, F. H. J., & van Riel, P. L. C. M. (2007). Macrophage migration inhibitory factor polymorphisms do not predict therapeutic response to glucocorticoids or to tumour necrosis factor alpha-neutralising treatments in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *66*(11), 1525-1530. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.064394>

- Rahbani, J. F., Bunk, J., Lagarde, D., Samborska, B., Roesler, A., Xiao, H., Shaw, A., Kaiser, Z., Braun, J. L., Geromella, M. S., Fajardo, V. A., Koza, R. A., & Kazak, L. (2024). Parallel control of cold-triggered adipocyte thermogenesis by UCP1 and CKB. *Cell Metabolism*, *36*(3), 526-540.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.01.001>
- Rahbani, J. F., Roesler, A., Hussain, M. F., Samborska, B., Dykstra, C. B., Tsai, L., Jedrychowski, M. P., Vergnes, L., Reue, K., Spiegelman, B. M., & Kazak, L. (2021). Creatine kinase B controls futile creatine cycling in thermogenic fat. *Nature*, *590*(7846), 480-485. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03221-y>
- Raimbault, S., Dridi, S., Denjean, F., Lachuer, J., Couplan, E., Bouillaud, F., Bordas, A., Duchamp, C., Taouis, M., & Ricquier, D. (2001). An uncoupling protein homologue putatively involved in facultative muscle thermogenesis in birds. *The Biochemical Journal*, *353*(Pt 3), 441-444. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3530441>
- Rajakumari, S., Wu, J., Ishibashi, J., Lim, H.-W., Giang, A.-H., Won, K.-J., Reed, R. R., & Seale, P. (2013). EBF2 determines and maintains brown adipocyte identity. *Cell Metabolism*, *17*(4), 562-574. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.01.015>
- Rajasekaran, M., Sul, O.-J., Choi, E.-K., Kim, J.-E., Suh, J.-H., & Choi, H.-S. (2019). MCP-1 deficiency enhances browning of adipose tissue via increased M2 polarization. *The Journal of Endocrinology*, *242*(2), 91-101. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0190>
- Ramsden, D. B., Ho, P. W.-L., Ho, J. W.-M., Liu, H.-F., So, D. H.-F., Tse, H.-M., Chan, K.-H., & Ho, S.-L. (2012). Human neuronal uncoupling proteins 4 and 5 (Ucp4 and ucp5) : Structural properties, regulation, and physiological role in protection against oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Brain and Behavior*, *2*(4), 468-478. <https://doi.org/10.1002/brb3.55>
- Rao, R. R., Long, J. Z., White, J. P., Svensson, K. J., Lou, J., Lokurkar, I., Jedrychowski, M. P., Ruas, J. L., Wrann, C. D., Lo, J. C., Camera, D. M., Lachey, J., Gygi, S., Seehra, J., Hawley, J. A., & Spiegelman, B. M. (2014). Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis. *Cell*, *157*(6), 1279-1291. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.065>
- Rastinejad, F., Wagner, T., Zhao, Q., & Khorasanizadeh, S. (2000). Structure of the RXR-RAR DNA-binding complex on the retinoic acid response element DR1. *The EMBO Journal*, *19*(5), 1045-1054. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.5.1045>
- Raud, B., Gay, C., Guiguet-Auclair, C., Bonnin, A., Gerbaud, L., Pereira, B., Duclos, M., Boirie, Y., & Coudeyre, E. (2020). Level of obesity is directly associated with the clinical and functional consequences of knee osteoarthritis. *Scientific Reports*, *10*(1), 3601. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60587-1>
- Reczens, E., Tavernier, G., Dufau, J., Bergoglio, C., Benhamed, F., Cassant-Sourdy, S., Marques, M.-A., Caspar-Bauguil, S., Brion, A., Monbrun, L., Dentin, R., Ferrier, C., Leroux, M., Denechaud, P.-D., Moro, C., Concordet, J.-P., Postic, C., Mouisel, E., & Langin, D. (2022). ChREBP $\beta$  is dispensable for the control of glucose homeostasis and energy balance. *JCI Insight*, *7*(4), e153431. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.153431>
- Rendon, C. J., Flood, E., Thompson, J. M., Chirivi, M., Watts, S. W., & Contreras, G. A. (2022). PIEZO1 mechanoreceptor activation reduces adipogenesis in perivascular adipose tissue preadipocytes. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 995499. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.995499>
- Revelli, J. P., Preitner, F., Samec, S., Muniesa, P., Kuehne, F., Boss, O., Vassalli, J. D., Dulloo, A., Seydoux, J., Giacobino, J. P., Huarte, J., & Ody, C. (1997). Targeted gene disruption reveals a leptin-independent role for the mouse beta3-adrenoceptor in the regulation of body composition. *The Journal of Clinical Investigation*, *100*(5), 1098-1106.

<https://doi.org/10.1172/JCI119620>

- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986-1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Ricquier, D., Bouillaud, F., Toumelin, P., Mory, G., Bazin, R., Arch, J., & Pénicaud, L. (1986). Expression of uncoupling protein mRNA in thermogenic or weakly thermogenic brown adipose tissue. Evidence for a rapid beta-adrenoreceptor-mediated and transcriptionally regulated step during activation of thermogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 261(30), 13905-13910.
- Ricquier, D., Lin, C., & Klingenberg, M. (1982). Isolation of the GDP binding protein from brown adipose tissue mitochondria of several animals and amino acid composition study in rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 106(2), 582-589. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(82\)91150-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(82)91150-0)
- Ricquier, D., Nechad, M., & Mory, G. (1982). Ultrastructural and biochemical characterization of human brown adipose tissue in pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 54(4), 803-807. <https://doi.org/10.1210/jcem-54-4-803>
- Rigano, D., Sirignano, C., & Tagliatela-Scafati, O. (2017). The potential of natural products for targeting PPAR  $\alpha$ . *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 7(4), 427-438. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2017.05.005>
- Rissanen, A. M., Heliövaara, M., Knekt, P., Reunanen, A., & Aromaa, A. (1991). Determinants of weight gain and overweight in adult Finns. *European Journal of Clinical Nutrition*, 45(9), 419-430.
- Roberts, L. D., Boström, P., O'Sullivan, J. F., Schinzel, R. T., Lewis, G. D., Dejam, A., Lee, Y.-K., Palma, M. J., Calhoun, S., Georgiadi, A., Chen, M.-H., Ramachandran, V. S., Larson, M. G., Bouchard, C., Rankinen, T., Souza, A. L., Clish, C. B., Wang, T. J., Estall, J. L., ... Gerszten, R. E. (2014).  $\beta$ -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic  $\beta$ -oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. *Cell Metabolism*, 19(1), 96-108. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.003>
- Rodeheffer, M. S., Birsoy, K., & Friedman, J. M. (2008). Identification of white adipocyte progenitor cells in vivo. *Cell*, 135(2), 240-249. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.036>
- Rodriguez, A.-M., Elabd, C., Amri, E.-Z., Ailhaud, G., & Dani, C. (2005). The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie*, 87(1), 125-128. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2004.11.007>
- Rodriguez, A.-M., Elabd, C., Delteil, F., Astier, J., Vernochet, C., Saint-Marc, P., Guesnet, J., Guezennec, A., Amri, E.-Z., Dani, C., & Ailhaud, G. (2004). Adipocyte differentiation of multipotent cells established from human adipose tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315(2), 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.01.053>
- Ronquillo, M. D., Mellnyk, A., Cárdenas-Rodríguez, N., Martínez, E., Comoto, D. A., Carmona-Aparicio, L., Herrera, N. E., Lara, E., Pereyra, A., & Floriano-Sánchez, E. (2019). Different gene expression profiles in subcutaneous & visceral adipose tissues from Mexican patients with obesity. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(5), 616-626. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_1165\\_17](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1165_17)
- Rosen, E. D., & MacDougald, O. A. (2006). Adipocyte differentiation from the inside out. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 7(12), 885-896. <https://doi.org/10.1038/nrm2066>
- Rosenwald, M., Perdikari, A., Rüllicke, T., & Wolfrum, C. (2013). Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nature Cell Biology*, 15(6), 659-667. <https://doi.org/10.1038/ncb2740>

- Rosenwald, M., & Wolfrum, C. (2014). The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte*, 3(1), 4-9. <https://doi.org/10.4161/adip.26232>
- Ross, R., Neeland, I. J., Yamashita, S., Shai, I., Seidell, J., Magni, P., Santos, R. D., Arsenault, B., Cuevas, A., Hu, F. B., Griffin, B. A., Zambon, A., Barter, P., Fruchart, J.-C., Eckel, R. H., Matsuzawa, Y., & Després, J.-P. (2020). Waist circumference as a vital sign in clinical practice : A consensus statement from the ias and iccr working group on visceral obesity. *Nature Reviews. Endocrinology*, 16(3), 177-189. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0310-7>
- Ross, S. E., Hemati, N., Longo, K. A., Bennett, C. N., Lucas, P. C., Erickson, R. L., & MacDougald, O. A. (2000). Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 289(5481), 950-953. <https://doi.org/10.1126/science.289.5481.950>
- Ross, W. R., & McGill, J. B. (2006). Epidemiology of obesity and chronic kidney disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 13(4), 325-335. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2006.07.012>
- Roth, L., Johann, K., Hönes, G. S., Oelkrug, R., Wagner, L., Hoffmann, A., Krohn, K., Moeller, L. C., Weiner, J., Heiker, J. T., Klötting, N., Tönjes, A., Stumvoll, M., Blüher, M., Mittag, J., & Krause, K. (2023). Thyroid hormones regulate Zfp423 expression in regionally distinct adipose depots through direct and cell-autonomous action. *Cell Reports*, 42(2), 112088. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112088>
- Rotter, V., Nagaev, I., & Smith, U. (2003). Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(46), 45777-45784. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301977200>
- Rucker, D., Padwal, R., Li, S. K., Curioni, C., & Lau, D. C. W. (2007). Long term pharmacotherapy for obesity and overweight : Updated meta-analysis. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 335(7631), 1194-1199. <https://doi.org/10.1136/bmj.39385.413113.25>
- Russell, T. R., & Ho, R. (1976). Conversion of 3T3 fibroblasts into adipose cells : Triggering of differentiation by prostaglandin F2alpha and 1-methyl-3-isobutyl xanthine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73(12), 4516-4520. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.12.4516>
- Rydén, M., Arvidsson, E., Blomqvist, L., Perbeck, L., Dicker, A., & Arner, P. (2004). Targets for TNF-alpha-induced lipolysis in human adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 318(1), 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.010>
- Rytka, J. M., Wueest, S., Schoenle, E. J., & Konrad, D. (2011). The portal theory supported by venous drainage-selective fat transplantation. *Diabetes*, 60(1), 56-63. <https://doi.org/10.2337/db10-0697>
- Sacks, F. M., Bray, G. A., Carey, V. J., Smith, S. R., Ryan, D. H., Anton, S. D., McManus, K., Champagne, C. M., Bishop, L. M., Laranjo, N., Leboff, M. S., Rood, J. C., de Jonge, L., Greenway, F. L., Loria, C. M., Obarzanek, E., & Williamson, D. A. (2009). Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *The New England Journal of Medicine*, 360(9), 859-873. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0804748>
- Sahin, C., Magomedova, L., Ferreira, T. A. M., Liu, J., Tiefenbach, J., Alves, P. S., Queiroz, F. J. G., Oliveira, A. S. de, Bhattacharyya, M., Grouleff, J., Nogueira, P. C. N., Silveira, E. R., Moreira, D. C., Leite, J. R. S. de A., Brand, G. D., Uehling, D., Poda, G., Krause, H., Cummins, C. L., & Romeiro, L. A. S. (2022). Phenolic lipids derived from cashew nut shell liquid to treat metabolic diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(3), 1961-1978. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01542>
- Sahin, C., Melanson, J.-R., Le Billan, F., Magomedova, L., Ferreira, T. A. M., Oliveira, A. S., Pollock-Tahari, E., Saikali, M. F., Cash, S. B., Woo, M., Romeiro, L. A. S., & Cummins, C. L. (2024). A

- novel fatty acid mimetic with pan-PPAR partial agonist activity inhibits diet-induced obesity and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Molecular Metabolism*, *85*, 101958. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2024.101958>
- Sakers, A., De Siqueira, M. K., Seale, P., & Villanueva, C. J. (2022). Adipose-tissue plasticity in health and disease. *Cell*, *185*(3), 419-446. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.016>
- Sanchez-Gurmaches, J., & Guertin, D. A. (2014). Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed. *Nature Communications*, *5*, 4099. <https://doi.org/10.1038/ncomms5099>
- Sanchez-Gurmaches, J., Tang, Y., Jespersen, N. Z., Wallace, M., Martinez Calejman, C., Gujja, S., Li, H., Edwards, Y. J. K., Wolfrum, C., Metallo, C. M., Nielsen, S., Scheele, C., & Guertin, D. A. (2018). Brown fat akt2 is a cold-induced kinase that stimulates chrebp-mediated de novo lipogenesis to optimize fuel storage and thermogenesis. *Cell Metabolism*, *27*(1), 195-209.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.10.008>
- Sawada, T., Miyoshi, H., Shimada, K., Suzuki, A., Okamatsu-Ogura, Y., Perfield, J. W., Kondo, T., Nagai, S., Shimizu, C., Yoshioka, N., Greenberg, A. S., Kimura, K., & Koike, T. (2010). Perilipin overexpression in white adipose tissue induces a brown fat-like phenotype. *PloS One*, *5*(11), e14006. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014006>
- Schaffner, F., & Thaler, H. (1986). Nonalcoholic fatty liver disease. *Progress in Liver Diseases*, *8*, 283-298.
- Scheen, A. J., & Van Gaal, L. F. (2010). [Liraglutide (Victoza) : Human glucagon-like peptide-1 used in once daily injection for the treatment of type 2 diabetes]. *Revue Medicale De Liege*, *65*(7-8), 464-470.
- Schepers, R. J., & Ringkamp, M. (2010). Thermoreceptors and thermosensitive afferents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *34*(2), 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.10.003>
- Schoiswohl, G., Stefanovic-Racic, M., Menke, M. N., Wills, R. C., Surlow, B. A., Basantani, M. K., Sitnick, M. T., Cai, L., Yazbeck, C. F., Stolz, D. B., Pulinilkunnil, T., O'Doherty, R. M., & Kershaw, E. E. (2015). Impact of reduced atgl-mediated adipocyte lipolysis on obesity-associated insulin resistance and inflammation in male mice. *Endocrinology*, *156*(10), 3610-3624. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1322>
- Schreiber, R., Diwoky, C., Schoiswohl, G., Feiler, U., Wongsiriroj, N., Abdellatif, M., Kolb, D., Hoeks, J., Kershaw, E. E., Sedej, S., Schrauwen, P., Haemmerle, G., & Zechner, R. (2017). Cold-induced thermogenesis depends on atgl-mediated lipolysis in cardiac muscle, but not brown adipose tissue. *Cell Metabolism*, *26*(5), 753-763.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.004>
- Schulz, T. J., Huang, T. L., Tran, T. T., Zhang, H., Townsend, K. L., Shadrach, J. L., Cerletti, M., McDougall, L. E., Giorgadze, N., Tchkonja, T., Schrier, D., Falb, D., Kirkland, J. L., Wagers, A. J., & Tseng, Y.-H. (2011). Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(1), 143-148. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010929108>
- Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H. M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Rudnicki, M. A., Beier, D. R., & Spiegelman, B. M. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, *454*(7207), 961-967. <https://doi.org/10.1038/nature07182>
- Seale, P., Conroe, H. M., Estall, J., Kajimura, S., Frontini, A., Ishibashi, J., Cohen, P., Cinti, S., & Spiegelman, B. M. (2011). Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, *121*(1), 96-105. <https://doi.org/10.1172/JCI44271>

- Seale, P., Kajimura, S., Yang, W., Chin, S., Rohas, L. M., Uldry, M., Tavernier, G., Langin, D., & Spiegelman, B. M. (2007). Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metabolism*, 6(1), 38-54. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.06.001>
- Seale, P., Sabourin, L. A., Girgis-Gabardo, A., Mansouri, A., Gruss, P., & Rudnicki, M. A. (2000). Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell*, 102(6), 777-786. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00066-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00066-0)
- Sekiya, M., Yahagi, N., Matsuzaka, T., Takeuchi, Y., Nakagawa, Y., Takahashi, H., Okazaki, H., Iizuka, Y., Ohashi, K., Gotoda, T., Ishibashi, S., Nagai, R., Yamazaki, T., Kadowaki, T., Yamada, N., Osuga, J., & Shimano, H. (2007). SREBP-1-independent regulation of lipogenic gene expression in adipocytes. *Journal of Lipid Research*, 48(7), 1581-1591. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700033-JLR200>
- Sen, B., Xie, Z., Case, N., Ma, M., Rubin, C., & Rubin, J. (2008). Mechanical strain inhibits adipogenesis in mesenchymal stem cells by stimulating a durable beta-catenin signal. *Endocrinology*, 149(12), 6065-6075. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0687>
- Seravalle, G., & Grassi, G. (2017). Obesity and hypertension. *Pharmacological Research*, 122, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.013>
- Serhan, C. N. (2014). Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*, 510(7503), 92-101. <https://doi.org/10.1038/nature13479>
- Shai, I., Schwarzfuchs, D., Henkin, Y., Shahar, D. R., Witkow, S., Greenberg, I., Golan, R., Fraser, D., Bolotin, A., Vardi, H., Tangi-Rozental, O., Zuk-Ramot, R., Sarusi, B., Brickner, D., Schwartz, Z., Sheiner, E., Marko, R., Katorza, E., Thiery, J., ... Dietary Intervention Randomized Controlled Trial (DIRECT) Group. (2008). Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *The New England Journal of Medicine*, 359(3), 229-241. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0708681>
- Shao, M., Ishibashi, J., Kusminski, C. M., Wang, Q. A., Hepler, C., Vishvanath, L., MacPherson, K. A., Spurgin, S. B., Sun, K., Holland, W. L., Seale, P., & Gupta, R. K. (2016). Zfp423 maintains white adipocyte identity through suppression of the beige cell thermogenic gene program. *Cell Metabolism*, 23(6), 1167-1184. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.023>
- Shen, S., Liao, Q., Chen, X., Peng, C., & Lin, L. (2022). The role of irisin in metabolic flexibility : Beyond adipose tissue browning. *Drug Discovery Today*, 27(8), 2261-2267. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.03.019>
- Shen, Y., Su, Y., Silva, F. J., Weller, A. H., Sostre-Colón, J., Titchenell, P. M., Steger, D. J., Seale, P., & Soccio, R. E. (2020). Shared ppara/γ target genes regulate brown adipocyte thermogenic function. *Cell Reports*, 30(9), 3079-3091.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.032>
- Shi, Y., & Cheng, D. (2009). Beyond triglyceride synthesis : The dynamic functional roles of MGAT and DGAT enzymes in energy metabolism. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 297(1), E10-18. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90949.2008>
- Shimada, M., Hashimoto, E., Tani, M., Hasegawa, K., Okuda, H., Hayashi, N., Takasaki, K., & Ludwig, J. (2002). Hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Hepatology*, 37(1), 154-160. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(02\)00099-5](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(02)00099-5)
- Shimano, H., Shimomura, I., Hammer, R. E., Herz, J., Goldstein, J. L., Brown, M. S., & Horton, J. D. (1997). Elevated levels of SREBP-2 and cholesterol synthesis in livers of mice homozygous for a targeted disruption of the SREBP-1 gene. *The Journal of Clinical Investigation*, 100(8), 2115-2124. <https://doi.org/10.1172/JCI119746>
- Shimizu, I., Aprahamian, T., Kikuchi, R., Shimizu, A., Papanicolaou, K. N., MacLauchlan, S., Maruyama, S., & Walsh, K. (2014). Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. *The*

- Journal of Clinical Investigation*, 124(5), 2099-2112. <https://doi.org/10.1172/JCI71643>
- Shin, H., Ma, Y., Chanturiya, T., Cao, Q., Wang, Y., Kadegowda, A. K. G., Jackson, R., Rumore, D., Xue, B., Shi, H., Gavrilova, O., & Yu, L. (2017). Lipolysis in brown adipocytes is not essential for cold-induced thermogenesis in mice. *Cell Metabolism*, 26(5), 764-777.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.002>
- Shoham, N., & Gefen, A. (2012). Mechanotransduction in adipocytes. *Journal of Biomechanics*, 45(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.10.023>
- Shoham, N., Girshovitz, P., Katzungold, R., Shaked, N. T., Benayahu, D., & Gefen, A. (2014). Adipocyte stiffness increases with accumulation of lipid droplets. *Biophysical Journal*, 106(6), 1421-1431. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.01.045>
- Shoham, N., Gottlieb, R., Sharabani-Yosef, O., Zaretsky, U., Benayahu, D., & Gefen, A. (2012). Static mechanical stretching accelerates lipid production in 3T3-L1 adipocytes by activating the MEK signaling pathway. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 302(2), C429-441. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00167.2011>
- Shugart, E. C., & Umek, R. M. (1997). Dexamethasone signaling is required to establish the postmitotic state of adipocyte development. *Cell Growth & Differentiation: The Molecular Biology Journal of the American Association for Cancer Research*, 8(10), 1091-1098.
- Shulman, A. I., Larson, C., Mangelsdorf, D. J., & Ranganathan, R. (2004). Structural determinants of allosteric ligand activation in RXR heterodimers. *Cell*, 116(3), 417-429. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00119-9)
- Sidossis, L., & Kajimura, S. (2015). Brown and beige fat in humans : Thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(2), 478-486. <https://doi.org/10.1172/JCI78362>
- Silventoinen, K., Gouveia, É., Jelenkovic, A., Maia, J., Antunes, A. M., Pinheiro de Carvalho, M. A. A., Brehm, A. M., Thomis, M., Lefevre, J., Kaprio, J., & Freitas, D. (2017). The genetic background of metabolic trait clusters in children and adolescents. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 15(7), 329-336. <https://doi.org/10.1089/met.2017.0013>
- Simcox, J., Geoghegan, G., Maschek, J. A., Bensard, C. L., Pasquali, M., Miao, R., Lee, S., Jiang, L., Huck, I., Kershaw, E. E., Donato, A. J., Apte, U., Longo, N., Rutter, J., Schreiber, R., Zechner, R., Cox, J., & Villanueva, C. J. (2017). Global analysis of plasma lipids identifies liver-derived acylcarnitines as a fuel source for brown fat thermogenesis. *Cell Metabolism*, 26(3), 509-522.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.08.006>
- Singh, A. K., Aryal, B., Chaube, B., Rotllan, N., Varela, L., Horvath, T. L., Suárez, Y., & Fernández-Hernando, C. (2018). Brown adipose tissue derived ANGPTL4 controls glucose and lipid metabolism and regulates thermogenesis. *Molecular Metabolism*, 11, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.03.011>
- Sinha, R. (2018). Role of addiction and stress neurobiology on food intake and obesity. *Biological Psychology*, 131, 5-13. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2017.05.001>
- Smith, R. E., & Hock, R. J. (1963). Brown fat : Thermogenic effector of arousal in hibernators. *Science (New York, N.Y.)*, 140(3563), 199-200. <https://doi.org/10.1126/science.140.3563.199>
- Smith, R. E., & Hoijer, D. J. (1962). Metabolism and cellular function in cold acclimation. *Physiological Reviews*, 42, 60-142. <https://doi.org/10.1152/physrev.1962.42.1.60>
- Smith, S. R., Lovejoy, J. C., Greenway, F., Ryan, D., deJonge, L., de la Bretonne, J., Volafova, J., & Bray, G. A. (2001). Contributions of total body fat, abdominal subcutaneous adipose tissue compartments, and visceral adipose tissue to the metabolic complications of obesity. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 50(4), 425-435.



<https://doi.org/10.1053/meta.2001.21693>

- Son, J. S., Zhao, L., Chen, Y., Chen, K., Chae, S. A., de Avila, J. M., Wang, H., Zhu, M.-J., Jiang, Z., & Du, M. (2020). Maternal exercise via exerkine apelin enhances brown adipogenesis and prevents metabolic dysfunction in offspring mice. *Science Advances*, 6(16), eaaz0359. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz0359>
- Song, Q., Li, N., Sun, C., Li, Y., King, B., Lowe, S., Bentley, R., Su, W., Wang, H., Guo, X., Liang, Q., Liang, M., Qu, G., Liu, H., Ding, X., & Sun, Y. (2022). Famine exposure in adolescence is associated with a higher risk of overweight/obesity and abdominal obesity in adulthood : A meta-analysis. *Nutrition Research (New York, N.Y.)*, 107, 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2022.09.005>
- Song, Z., Xiaoli, A. M., & Yang, F. (2018). Regulation and metabolic significance of de novo lipogenesis in adipose tissues. *Nutrients*, 10(10), 1383. <https://doi.org/10.3390/nu10101383>
- South, J. C. M., Blackburn, E., Brown, I. R., & Gullick, W. J. (2013). The neuregulin system of ligands and their receptors in rat islets of langerhans. *Endocrinology*, 154(7), 2385-2392. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2133>
- Spalding, K. L., Arner, E., Westermark, P. O., Bernard, S., Buchholz, B. A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., Näslund, E., Britton, T., Concha, H., Hassan, M., Rydén, M., Frisén, J., & Arner, P. (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, 453(7196), 783-787. <https://doi.org/10.1038/nature06902>
- Spiegelman, B. M., & Heinrich, R. (2004). Biological control through regulated transcriptional coactivators. *Cell*, 119(2), 157-167. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.037>
- Stanford, K. I., Lynes, M. D., Takahashi, H., Baer, L. A., Arts, P. J., May, F. J., Lehnig, A. C., Middelbeek, R. J. W., Richard, J. J., So, K., Chen, E. Y., Gao, F., Narain, N. R., Distefano, G., Shettigar, V. K., Hirshman, M. F., Ziolo, M. T., Kiebish, M. A., Tseng, Y.-H., ... Goodyear, L. J. (2018). 12,13-dihomo : An exercise-induced lipokine that increases skeletal muscle fatty acid uptake. *Cell Metabolism*, 27(5), 1111-1120.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.020>
- Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W., Townsend, K. L., An, D., Nygaard, E. B., Hitchcox, K. M., Markan, K. R., Nakano, K., Hirshman, M. F., Tseng, Y.-H., & Goodyear, L. J. (2013). Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(1), 215-223. <https://doi.org/10.1172/JCI62308>
- Steinberg, G. R., Michell, B. J., Van Denderen, B. J. W., Watt, M. J., Carey, A. L., Fam, B. C., Andrikopoulos, S., Proietto, J., Görgün, C. Z., Carling, D., Hotamisligil, G. S., Febbraio, M. A., Kay, T. W., & Kemp, B. E. (2006). Tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced skeletal muscle insulin resistance involves suppression of AMP-kinase signaling. *Cell Metabolism*, 4(6), 465-474. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.11.005>
- Stenkula, K. G., & Erlanson-Albertsson, C. (2018). Adipose cell size : Importance in health and disease. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 315(2), R284-R295. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00257.2017>
- Stenlöf, K., Wernstedt, I., Fjällman, T., Wallenius, V., Wallenius, K., & Jansson, J.-O. (2003). Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(9), 4379-4383. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021733>
- Stienstra, R., Duval, C., Keshtkar, S., van der Laak, J., Kersten, S., & Müller, M. (2008). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation promotes infiltration of alternatively activated macrophages into adipose tissue. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(33), 22620-22627. <https://doi.org/10.1074/jbc.M710314200>

- Strotmann, R., Harteneck, C., Nunnenmacher, K., Schultz, G., & Plant, T. D. (2000). OTRPC4, a nonselective cation channel that confers sensitivity to extracellular osmolarity. *Nature Cell Biology*, 2(10), 695-702. <https://doi.org/10.1038/35036318>
- Stunkard, A. J., Foch, T. T., & Hrubec, Z. (1986). A twin study of human obesity. *JAMA*, 256(1), 51-54.
- Sugimoto, S., Mena, H. A., Sansbury, B. E., Kobayashi, S., Tsuji, T., Wang, C.-H., Yin, X., Huang, T. L., Kusuyama, J., Kodani, S. D., Darcy, J., Profeta, G., Pereira, N., Tanzi, R. E., Zhang, C., Serwold, T., Kokkotou, E., Goodyear, L. J., Cypess, A. M., ... Tseng, Y.-H. (2022). Brown adipose tissue-derived MaR2 contributes to cold-induced resolution of inflammation. *Nature Metabolism*, 4(6), 775-790. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00590-0>
- Sul, H. S., Smas, C., Mei, B., & Zhou, L. (2000). Function of pref-1 as an inhibitor of adipocyte differentiation. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24 Suppl 4, S15-19. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801494>
- Sun, C., Sakashita, H., Kim, J., Tang, Z., Upchurch, G. M., Yao, L., Berry, W. L., Griffin, T. M., & Olson, L. E. (2020). Mosaic mutant analysis identifies pdgfra/pdgfrb as negative regulators of adipogenesis. *Cell Stem Cell*, 26(5), 707-721.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.03.004>
- Sun, K., Kusminski, C. M., Luby-Phelps, K., Spurgin, S. B., An, Y. A., Wang, Q. A., Holland, W. L., & Scherer, P. E. (2014). Brown adipose tissue derived VEGF-A modulates cold tolerance and energy expenditure. *Molecular Metabolism*, 3(4), 474-483. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.03.010>
- Sun, W., Uchida, K., Suzuki, Y., Zhou, Y., Kim, M., Takayama, Y., Takahashi, N., Goto, T., Wakabayashi, S., Kawada, T., Iwata, Y., & Tominaga, M. (2016). Lack of TRPV2 impairs thermogenesis in mouse brown adipose tissue. *EMBO Reports*, 17(3), 383-399. <https://doi.org/10.15252/embr.201540819>
- Sun, W., Uchida, K., Takahashi, N., Iwata, Y., Wakabayashi, S., Goto, T., Kawada, T., & Tominaga, M. (2016). Activation of TRPV2 negatively regulates the differentiation of mouse brown adipocytes. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 468(9), 1527-1540. <https://doi.org/10.1007/s00424-016-1846-1>
- Susulic, V. S., Frederich, R. C., Lawitts, J., Tozzo, E., Kahn, B. B., Harper, M. E., Himms-Hagen, J., Flier, J. S., & Lowell, B. B. (1995). Targeted disruption of the beta 3-adrenergic receptor gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(49), 29483-29492. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.49.29483>
- Swinburn, B. A., Caterson, I., Seidell, J. C., & James, W. P. T. (2004). Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutrition*, 7(1A), 123-146. <https://doi.org/10.1079/phn2003585>
- Swinburn, B., & Egger, G. (2004). The runaway weight gain train : Too many accelerators, not enough brakes. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 329(7468), 736-739. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7468.736>
- Syed, I., Lee, J., Moraes-Vieira, P. M., Donaldson, C. J., Sontheimer, A., Aryal, P., Wellenstein, K., Kolar, M. J., Nelson, A. T., Siegel, D., Mokrosinski, J., Farooqi, I. S., Zhao, J. J., Yore, M. M., Peroni, O. D., Saghatelian, A., & Kahn, B. B. (2018). Palmitic acid hydroxystearic acids activate gpr40, which is involved in their beneficial effects on glucose homeostasis. *Cell Metabolism*, 27(2), 419-427.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.01.001>
- Syed, I., Lee, J., Peroni, O. D., Yore, M. M., Moraes-Vieira, P. M., Santoro, A., Wellenstein, K., Smith, U., McGraw, T. E., Saghatelian, A., & Kahn, B. B. (2018). Methodological issues in studying paha biology : Masking paha effects. *Cell Metabolism*, 28(4), 543-546. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.09.007>

- Sztalryd, C., & Kimmel, A. R. (2014). Perilipins : Lipid droplet coat proteins adapted for tissue-specific energy storage and utilization, and lipid cytoprotection. *Biochimie*, *96*, 96-101. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.08.026>
- Tak, Y. J., & Lee, S. Y. (2021). Long-term efficacy and safety of anti-obesity treatment : Where do we stand? *Current Obesity Reports*, *10*(1), 14-30. <https://doi.org/10.1007/s13679-020-00422-w>
- Tanabe, Y., Koga, M., Saito, M., Matsunaga, Y., & Nakayama, K. (2004). Inhibition of adipocyte differentiation by mechanical stretching through ERK-mediated downregulation of PPARgamma2. *Journal of Cell Science*, *117*(Pt 16), 3605-3614. <https://doi.org/10.1242/jcs.01207>
- Tanabe, Y., Matsunaga, Y., Saito, M., & Nakayama, K. (2008). Involvement of cyclooxygenase-2 in synergistic effect of cyclic stretching and eicosapentaenoic acid on adipocyte differentiation. *Journal of Pharmacological Sciences*, *106*(3), 478-484. <https://doi.org/10.1254/jphs.fp0071886>
- Tanaka, T., Yoshida, N., Kishimoto, T., & Akira, S. (1997). Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. *The EMBO Journal*, *16*(24), 7432-7443. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.24.7432>
- Tang, W., Zeve, D., Suh, J. M., Bosnakovski, D., Kyba, M., Hammer, R. E., Tallquist, M. D., & Graff, J. M. (2008). White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. *Science (New York, N.Y.)*, *322*(5901), 583-586. <https://doi.org/10.1126/science.1156232>
- Tang, Y., Wallace, M., Sanchez-Gurmaches, J., Hsiao, W.-Y., Li, H., Lee, P. L., Vernia, S., Metallo, C. M., & Guertin, D. A. (2016). Adipose tissue mTORC2 regulates ChREBP-driven de novo lipogenesis and hepatic glucose metabolism. *Nature Communications*, *7*, 11365. <https://doi.org/10.1038/ncomms11365>
- Tani, Y., Kondo, N., Takagi, D., Saito, M., Hikichi, H., Ojima, T., & Kondo, K. (2015). Combined effects of eating alone and living alone on unhealthy dietary behaviors, obesity and underweight in older Japanese adults : Results of the JAGES. *Appetite*, *95*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.06.005>
- Taschler, U., Radner, F. P. W., Heier, C., Schreiber, R., Schweiger, M., Schoiswohl, G., Preiss-Landl, K., Jaeger, D., Reiter, B., Koefeler, H. C., Wojciechowski, J., Theussl, C., Penninger, J. M., Lass, A., Haemmerle, G., Zechner, R., & Zimmermann, R. (2011). Monoglyceride lipase deficiency in mice impairs lipolysis and attenuates diet-induced insulin resistance. *The Journal of Biological Chemistry*, *286*(20), 17467-17477. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.215434>
- Tews, D., Brenner, R. E., Siebert, R., Debatin, K.-M., Fischer-Posovszky, P., & Wabitsch, M. (2022). 20 Years with SGBS cells—A versatile in vitro model of human adipocyte biology. *International Journal of Obesity* (2005), *46*(11), 1939-1947. <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01199-9>
- Tharp, K. M., Kang, M. S., Timblin, G. A., Dempersmier, J., Dempsey, G. E., Zushin, P.-J. H., Benavides, J., Choi, C., Li, C. X., Jha, A. K., Kajimura, S., Healy, K. E., Sul, H. S., Saijo, K., Kumar, S., & Stahl, A. (2018). Actomyosin-mediated tension orchestrates uncoupled respiration in adipose tissues. *Cell Metabolism*, *27*(3), 602-615.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.02.005>
- Thomou, T., Mori, M. A., Dreyfuss, J. M., Konishi, M., Sakaguchi, M., Wolfrum, C., Rao, T. N., Winnay, J. N., Garcia-Martin, R., Grinspoon, S. K., Gorden, P., & Kahn, C. R. (2017). Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. *Nature*, *542*(7642), 450-455. <https://doi.org/10.1038/nature21365>
- Thompson, B. R., Lobo, S., & Bernlohr, D. A. (2010). Fatty acid flux in adipocytes : The in's and out's of fat cell lipid trafficking. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *318*(1-2), 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.015>

- Thoonen, R., Ernande, L., Cheng, J., Nagasaka, Y., Yao, V., Miranda-Bezerra, A., Chen, C., Chao, W., Panagia, M., Sosnovik, D. E., Puppala, D., Armoundas, A. A., Hindle, A., Bloch, K. D., Buys, E. S., & Scherrer-Crosbie, M. (2015). Functional brown adipose tissue limits cardiomyocyte injury and adverse remodeling in catecholamine-induced cardiomyopathy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *84*, 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.05.002>
- Tiraby, C., Tavernier, G., Lefort, C., Larrouy, D., Bouillaud, F., Ricquier, D., & Langin, D. (2003). Acquirement of brown fat cell features by human white adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*(35), 33370-33376. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305235200>
- Tobi, E. W., Lumey, L. H., Talens, R. P., Kremer, D., Putter, H., Stein, A. D., Slagboom, P. E., & Heijmans, B. T. (2009). DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Human Molecular Genetics*, *18*(21), 4046-4053. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp353>
- Tomiyama, K., Nakata, H., Sasa, H., Arimura, S., Nishio, E., & Watanabe, Y. (1995). Wortmannin, a specific phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, inhibits adipocytic differentiation of 3T3-L1 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *212*(1), 263-269. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1965>
- Tomlinson, J. J., Boudreau, A., Wu, D., Abdou Salem, H., Carrigan, A., Gagnon, A., Mears, A. J., Sorisky, A., Atlas, E., & Haché, R. J. G. (2010). Insulin sensitization of human preadipocytes through glucocorticoid hormone induction of forkhead transcription factors. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, *24*(1), 104-113. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0091>
- Tong, Q., Dalgin, G., Xu, H., Ting, C. N., Leiden, J. M., & Hotamisligil, G. S. (2000). Function of GATA transcription factors in preadipocyte-adipocyte transition. *Science (New York, N.Y.)*, *290*(5489), 134-138. <https://doi.org/10.1126/science.290.5489.134>
- Tong, Q., Tsai, J., Tan, G., Dalgin, G., & Hotamisligil, G. S. (2005). Interaction between GATA and the C/EBP family of transcription factors is critical in GATA-mediated suppression of adipocyte differentiation. *Molecular and Cellular Biology*, *25*(2), 706-715. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.2.706-715.2005>
- Tontonoz, P., Hu, E., Graves, R. A., Budavari, A. I., & Spiegelman, B. M. (1994). Mppar gamma 2 : Tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes & Development*, *8*(10), 1224-1234. <https://doi.org/10.1101/gad.8.10.1224>
- Tontonoz, P., Hu, E., & Spiegelman, B. M. (1994). Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*, *79*(7), 1147-1156. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90006-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90006-x)
- Torgerson, J. S., Hauptman, J., Boldrin, M. N., & Sjöström, L. (2004). XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (Xendos) study : A randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes Care*, *27*(1), 155-161. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.1.155>
- Torres Irizarry, V. C., Jiang, Y., He, Y., & Xu, P. (2022). Hypothalamic estrogen signaling and adipose tissue metabolism in energy homeostasis. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 898139. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.898139>
- Tremmel, M., Gerdtham, U.-G., Nilsson, P. M., & Saha, S. (2017). Economic burden of obesity : A systematic literature review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(4), 435. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040435>
- Tricò, D., Mengozzi, A., Nesti, L., Hatunic, M., Gabriel Sanchez, R., Konrad, T., Lalić, K., Lalić, N. M., Mari, A., Natali, A., & EGIR-RISC Study Group. (2020). Circulating palmitoleic acid is an independent determinant of insulin sensitivity, beta cell function and glucose tolerance in non-diabetic individuals : A longitudinal analysis. *Diabetologia*, *63*(1), 206-218.

<https://doi.org/10.1007/s00125-019-05013-6>

- Tseng, Y.-H., Kokkotou, E., Schulz, T. J., Huang, T. L., Winnay, J. N., Taniguchi, C. M., Tran, T. T., Suzuki, R., Espinoza, D. O., Yamamoto, Y., Ahrens, M. J., Dudley, A. T., Norris, A. W., Kulkarni, R. N., & Kahn, C. R. (2008). New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*, *454*(7207), 1000-1004. <https://doi.org/10.1038/nature07221>
- Tsuchida, A., Yamauchi, T., Takekawa, S., Hada, Y., Ito, Y., Maki, T., & Kadowaki, T. (2005). Peroxisome proliferator-activated receptor (Ppar)alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity-related inflammation in adipose tissue : Comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination. *Diabetes*, *54*(12), 3358-3370. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.12.3358>
- Turner, N. J., Jones, H. S., Davies, J. E., & Canfield, A. E. (2008). Cyclic stretch-induced TGFbeta1/Smad signaling inhibits adipogenesis in umbilical cord progenitor cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *377*(4), 1147-1151. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.10.131>
- Uezumi, A., Fukada, S., Yamamoto, N., Takeda, S., & Tsuchida, K. (2010). Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nature Cell Biology*, *12*(2), 143-152. <https://doi.org/10.1038/ncb2014>
- Uyeda, K., Yamashita, H., & Kawaguchi, T. (2002). Carbohydrate responsive element-binding protein (Chrebp) : A key regulator of glucose metabolism and fat storage. *Biochemical Pharmacology*, *63*(12), 2075-2080. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(02\)01012-2](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(02)01012-2)
- Uzogara, S. G. (2017). *Obesity epidemic, medical and quality of life consequences : A review*. (Vol. 5).
- Vague, J. (1947). [Sexual differentiation; Factor determining forms of obesity]. *La Presse Medicale*, *55*(30), 339.
- van Marken Lichtenbelt, W. D., Vanhommerig, J. W., Smulders, N. M., Drossaerts, J. M. A. F. L., Kemerink, G. J., Bouvy, N. D., Schrauwen, P., & Teule, G. J. J. (2009). Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *The New England Journal of Medicine*, *360*(15), 1500-1508. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808718>
- Varzaneh, F. E., Shillabeer, G., Wong, K.-L., & Lau, D. C. W. (1994). Extracellular matrix components secreted by microvascular endothelial cells stimulate preadipocyte differentiation in vitro. *Metabolism*, *43*(7), 906-912. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(94\)90275-5](https://doi.org/10.1016/0026-0495(94)90275-5)
- Vázquez-Carrera, M., & Wahli, W. (2022). Ppars as key mediators in the regulation of metabolism and inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(9), 5025. <https://doi.org/10.3390/ijms23095025>
- Vegiopoulos, A., Müller-Decker, K., Strzoda, D., Schmitt, I., Chichelnitskiy, E., Ostertag, A., Berriel Diaz, M., Rozman, J., Hrabe de Angelis, M., Nüsing, R. M., Meyer, C. W., Wahli, W., Klingenspor, M., & Herzig, S. (2010). Cyclooxygenase-2 controls energy homeostasis in mice by de novo recruitment of brown adipocytes. *Science (New York, N.Y.)*, *328*(5982), 1158-1161. <https://doi.org/10.1126/science.1186034>
- Vidal-Puig, A. J., Grujic, D., Zhang, C. Y., Hagen, T., Boss, O., Ido, Y., Szczepanik, A., Wade, J., Mootha, V., Cortright, R., Muoio, D. M., & Lowell, B. B. (2000). Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*(21), 16258-16266. <https://doi.org/10.1074/jbc.M910179199>
- Vijayakumar, A., Aryal, P., Wen, J., Syed, I., Vazirani, R. P., Moraes-Vieira, P. M., Camporez, J. P., Gallop, M. R., Perry, R. J., Peroni, O. D., Shulman, G. I., Saghatelian, A., McGraw, T. E., & Kahn, B. B. (2017). Absence of carbohydrate response element binding protein in adipocytes causes systemic insulin resistance and impairs glucose transport. *Cell Reports*, *21*(4), 1021-1035. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.09.091>

- Villaret, A., Walther, R., Lafontan, M., & Bouloumié, A. (2011). Les cellules endothéliales du tissu adipeux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 46(5), 234-239. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2011.06.005>
- Villarroya, F., & Giralt, M. (2015). The beneficial effects of brown fat transplantation : Further evidence of an endocrine role of brown adipose tissue. *Endocrinology*, 156(7), 2368-2370. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1423>
- Virtanen, K. A., Lidell, M. E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.-J., Enerbäck, S., & Nuutila, P. (2009). Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England Journal of Medicine*, 360(15), 1518-1525. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808949>
- Virtue, S., Petkevicius, K., Moreno-Navarrete, J. M., Jenkins, B., Hart, D., Dale, M., Koulman, A., Fernández-Real, J. M., & Vidal-Puig, A. (2018). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  controls the rate of adipose tissue lipid storage and determines metabolic flexibility. *Cell Reports*, 24(8), 2005-2012.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.063>
- Vishvanath, L., MacPherson, K. A., Hepler, C., Wang, Q. A., Shao, M., Spurgin, S. B., Wang, M. Y., Kusminski, C. M., Morley, T. S., & Gupta, R. K. (2016). Pdgfr $\beta$ + mural preadipocytes contribute to adipocyte hyperplasia induced by high-fat-diet feeding and prolonged cold exposure in adult mice. *Cell Metabolism*, 23(2), 350-359. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.018>
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Tomasi, D., & Baler, R. (2012). Food and drug reward : Overlapping circuits in human obesity and addiction. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 11, 1-24. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2011\\_169](https://doi.org/10.1007/7854_2011_169)
- Wahli, W., Braissant, O., & Desvergne, B. (1995). Peroxisome proliferator activated receptors : Transcriptional regulators of adipogenesis, lipid metabolism and more.. *Chemistry & Biology*, 2(5), 261-266. [https://doi.org/10.1016/1074-5521\(95\)90045-4](https://doi.org/10.1016/1074-5521(95)90045-4)
- Wajchenberg, B. L. (2000). Subcutaneous and visceral adipose tissue : Their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 21(6), 697-738. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.6.0415>
- Waldén, T. B., Hansen, I. R., Timmons, J. A., Cannon, B., & Nedergaard, J. (2012). Recruited vs. Nonrecruited molecular signatures of brown, « brite, » and white adipose tissues. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 302(1), E19-31. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00249.2011>
- Walker, C. G., Browning, L. M., Mander, A. P., Madden, J., West, A. L., Calder, P. C., & Jebb, S. A. (2014). Age and sex differences in the incorporation of EPA and DHA into plasma fractions, cells and adipose tissue in humans. *The British Journal of Nutrition*, 111(4), 679-689. <https://doi.org/10.1017/S0007114513002985>
- Walker, M. E., Kodani, S. D., Mena, H. A., Tseng, Y.-H., Cypess, A. M., & Spite, M. (2024). Brown adipose tissue activation in humans increases plasma levels of lipid mediators. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 109(7), 1837-1849. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae016>
- Wallenius, V., Wallenius, K., Ahrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S. L., Ohlsson, C., & Jansson, J.-O. (2002). Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature Medicine*, 8(1), 75-79. <https://doi.org/10.1038/nm0102-75>
- Wang, E. A., Israel, D. I., Kelly, S., & Luxenberg, D. P. (1993). Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3H10T1/2 and 3T3 cells. *Growth Factors (Chur, Switzerland)*, 9(1), 57-71. <https://doi.org/10.3109/08977199308991582>
- Wang, G., Meyer, J. G., Cai, W., Softic, S., Li, M. E., Verdin, E., Newgard, C., Schilling, B., & Kahn, C. R.

- (2019). Regulation of ucp1 and mitochondrial metabolism in brown adipose tissue by reversible succinylation. *Molecular Cell*, 74(4), 844-857.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.021>
- Wang, G.-X., Zhao, X.-Y., Meng, Z.-X., Kern, M., Dietrich, A., Chen, Z., Cozocov, Z., Zhou, D., Okunade, A. L., Su, X., Li, S., Blüher, M., & Lin, J. D. (2014). The brown fat-enriched secreted factor Nrg4 preserves metabolic homeostasis through attenuation of hepatic lipogenesis. *Nature Medicine*, 20(12), 1436-1443. <https://doi.org/10.1038/nm.3713>
- Wang, H., & Eckel, R. H. (2009). Lipoprotein lipase : From gene to obesity. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 297(2), E271-288. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90920.2008>
- Wang, H., Zhang, Y., Yehuda-Shnaidman, E., Medvedev, A. V., Kumar, N., Daniel, K. W., Robidoux, J., Czech, M. P., Mangelsdorf, D. J., & Collins, S. (2008). Liver X receptor alpha is a transcriptional repressor of the uncoupling protein 1 gene and the brown fat phenotype. *Molecular and Cellular Biology*, 28(7), 2187-2200. <https://doi.org/10.1128/MCB.01479-07>
- Wang, N. D., Finegold, M. J., Bradley, A., Ou, C. N., Abdelsayed, S. V., Wilde, M. D., Taylor, L. R., Wilson, D. R., & Darlington, G. J. (1995). Impaired energy homeostasis in C/EBP alpha knockout mice. *Science (New York, N.Y.)*, 269(5227), 1108-1112. <https://doi.org/10.1126/science.7652557>
- Wang, Q. A., Tao, C., Gupta, R. K., & Scherer, P. E. (2013). Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nature Medicine*, 19(10), 1338-1344. <https://doi.org/10.1038/nm.3324>
- Wang, Q., Li, H., Tajima, K., Verkerke, A. R. P., Taxin, Z. H., Hou, Z., Cole, J. B., Li, F., Wong, J., Abe, I., Pradhan, R. N., Yamamuro, T., Yoneshiro, T., Hirschhorn, J. N., & Kajimura, S. (2022). Post-translational control of beige fat biogenesis by PRDM16 stabilization. *Nature*, 609(7925), 151-158. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05067-4>
- Wang, S., Cao, S., Arhatte, M., Li, D., Shi, Y., Kurz, S., Hu, J., Wang, L., Shao, J., Atzberger, A., Wang, Z., Wang, C., Zang, W., Fleming, I., Wettschureck, N., Honoré, E., & Offermanns, S. (2020). Adipocyte Piezo1 mediates obesogenic adipogenesis through the FGF1/FGFR1 signaling pathway in mice. *Nature Communications*, 11(1), 2303. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16026-w>
- Wang, W., Kissig, M., Rajakumari, S., Huang, L., Lim, H.-W., Won, K.-J., & Seale, P. (2014). Ebf2 is a selective marker of brown and beige adipogenic precursor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(40), 14466-14471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412685111>
- Wang, X., Chen, S., Lv, D., Li, Z., Ren, L., Zhu, H., Xie, X., & Liu, Y. (2021). Liraglutide suppresses obesity and promotes browning of white fat via miR-27b in vivo and in vitro. *The Journal of International Medical Research*, 49(11), 3000605211055059. <https://doi.org/10.1177/03000605211055059>
- Wang, Y.-X., Lee, C.-H., Tiep, S., Yu, R. T., Ham, J., Kang, H., & Evans, R. M. (2003). Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, 113(2), 159-170. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00269-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00269-1)
- Wang, Z., Ning, T., Song, A., Rutter, J., Wang, Q. A., & Jiang, L. (2020). Chronic cold exposure enhances glucose oxidation in brown adipose tissue. *EMBO Reports*, 21(11), e50085. <https://doi.org/10.15252/embr.202050085>
- Watson, R. T., & Pessin, J. E. (2001). Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. *Recent Progress in Hormone Research*, 56, 175-193. <https://doi.org/10.1210/rp.56.1.175>

- Watts, J. L. (2009). Fat synthesis and adiposity regulation in *Caenorhabditis elegans*. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 20(2), 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.11.002>
- Weiner, J., Kranz, M., Klötting, N., Kunath, A., Steinhoff, K., Rijntjes, E., Köhrle, J., Zeisig, V., Hankir, M., Gebhardt, C., Deuther-Conrad, W., Heiker, J. T., Kralisch, S., Stumvoll, M., Blüher, M., Sabri, O., Hesse, S., Brust, P., Tönjes, A., & Krause, K. (2016). Thyroid hormone status defines brown adipose tissue activity and browning of white adipose tissues in mice. *Scientific Reports*, 6, 38124. <https://doi.org/10.1038/srep38124>
- Weinsier, R. L., Hunter, G. R., Heini, A. F., Goran, M. I., & Sell, S. M. (1998). The etiology of obesity : Relative contribution of metabolic factors, diet, and physical activity. *The American Journal of Medicine*, 105(2), 145-150. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(98\)00190-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(98)00190-9)
- Weinstock, P. H., Bisgaier, C. L., Aalto-Setälä, K., Radner, H., Ramakrishnan, R., Levak-Frank, S., Essenburg, A. D., Zechner, R., & Breslow, J. L. (1995). Severe hypertriglyceridemia, reduced high density lipoprotein, and neonatal death in lipoprotein lipase knockout mice. Mild hypertriglyceridemia with impaired very low density lipoprotein clearance in heterozygotes. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(6), 2555-2568. <https://doi.org/10.1172/JCI118319>
- Weir, G., Ramage, L. E., Akyol, M., Rhodes, J. K., Kyle, C. J., Fletcher, A. M., Craven, T. H., Wakelin, S. J., Drake, A. J., Gregoriades, M.-L., Ashton, C., Weir, N., van Beek, E. J. R., Karpe, F., Walker, B. R., & Stimson, R. H. (2018). Substantial metabolic activity of human brown adipose tissue during warm conditions and cold-induced lipolysis of local triglycerides. *Cell Metabolism*, 27(6), 1348-1355.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.020>
- Weisberg, S. P., Hunter, D., Huber, R., Lemieux, J., Slaymaker, S., Vaddi, K., Charo, I., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2006). CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(1), 115-124. <https://doi.org/10.1172/JCI24335>
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796-1808. <https://doi.org/10.1172/JCI19246>
- Weitzman, E. D., Fukushima, D., Nogeire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T. F., & Hellman, L. (1971). Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 33(1), 14-22. <https://doi.org/10.1210/jcem-33-1-14>
- Westbury, S., Oyebode, O., van Rens, T., & Barber, T. M. (2023). Obesity stigma : Causes, consequences, and potential solutions. *Current Obesity Reports*, 12(1), 10-23. <https://doi.org/10.1007/s13679-023-00495-3>
- Westerterp, K. R. (2018). Exercise, energy expenditure and energy balance, as measured with doubly labelled water. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 77(1), 4-10. <https://doi.org/10.1017/S0029665117001148>
- Whittle, A. J., Carobbio, S., Martins, L., Slawik, M., Hondares, E., Vázquez, M. J., Morgan, D., Csikasz, R. I., Gallego, R., Rodriguez-Cuenca, S., Dale, M., Virtue, S., Villarroya, F., Cannon, B., Rahmouni, K., López, M., & Vidal-Puig, A. (2012). BMP8B increases brown adipose tissue thermogenesis through both central and peripheral actions. *Cell*, 149(4), 871-885. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.066>
- Wiechert, M., & Holzapfel, C. (2021). Nutrition concepts for the treatment of obesity in adults. *Nutrients*, 14(1), 169. <https://doi.org/10.3390/nu14010169>
- Williams, A. G., Long, M., & Kavanagh, K. (2023). Brief communication : Histological assessment of nonhuman primate brown adipose tissue highlights the importance of sympathetic



- innervation. *Journal of Obesity*, 2023, 5651084. <https://doi.org/10.1155/2023/5651084>
- Williams, C. D., Stengel, J., Asike, M. I., Torres, D. M., Shaw, J., Contreras, M., Landt, C. L., & Harrison, S. A. (2011). Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy : A prospective study. *Gastroenterology*, 140(1), 124-131. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.038>
- Winther, S., Isidor, M. S., Basse, A. L., Skjoldborg, N., Cheung, A., Quistorff, B., & Hansen, J. B. (2018). Restricting glycolysis impairs brown adipocyte glucose and oxygen consumption. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 314(3), E214-E223. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00218.2017>
- Wolf, Y., Boura-Halfon, S., Cortese, N., Haimon, Z., Sar Shalom, H., Kuperman, Y., Kalchenko, V., Brandis, A., David, E., Segal-Hayoun, Y., Chappell-Maor, L., Yaron, A., & Jung, S. (2017). Brown-adipose-tissue macrophages control tissue innervation and homeostatic energy expenditure. *Nature Immunology*, 18(6), 665-674. <https://doi.org/10.1038/ni.3746>
- Wolfgang, M. J., Kurama, T., Dai, Y., Suwa, A., Asaumi, M., Matsumoto, S.-I., Cha, S. H., Shimokawa, T., & Lane, M. D. (2006). The brain-specific carnitine palmitoyltransferase-1c regulates energy homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(19), 7282-7287. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602205103>
- Wooley, S. C., & Garner, D. M. (1994). Dietary treatments for obesity are ineffective. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 309(6955), 655-656. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6955.655>
- Wu, J., Boström, P., Sparks, L. M., Ye, L., Choi, J. H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Virtanen, K. A., Nuutila, P., Schaart, G., Huang, K., Tu, H., van Marken Lichtenbelt, W. D., Hoeks, J., Enerbäck, S., Schrauwen, P., & Spiegelman, B. M. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*, 150(2), 366-376. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.016>
- Wu, Q., Ortegon, A. M., Tsang, B., Doege, H., Feingold, K. R., & Stahl, A. (2006). FATP1 is an insulin-sensitive fatty acid transporter involved in diet-induced obesity. *Molecular and Cellular Biology*, 26(9), 3455-3467. <https://doi.org/10.1128/MCB.26.9.3455-3467.2006>
- Wulf, A., Wetzels, M. G., Kebenko, M., Kröger, M., Harneit, A., Merz, J., & Weitzel, J. M. (2008). The role of thyroid hormone receptor DNA binding in negative thyroid hormone-mediated gene transcription. *Journal of Molecular Endocrinology*, 41(1), 25-34. <https://doi.org/10.1677/JME-08-0023>
- Xu, H. E., Lambert, M. H., Montana, V. G., Parks, D. J., Blanchard, S. G., Brown, P. J., Sternbach, D. D., Lehmann, J. M., Wisely, G. B., Willson, T. M., Kliewer, S. A., & Milburn, M. V. (1999). Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Molecular Cell*, 3(3), 397-403. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80467-0](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80467-0)
- Yang, X., Cai, X., Wang, J., Tang, H., Yuan, Q., Gong, P., & Lin, Y. (2012). Mechanical stretch inhibits adipogenesis and stimulates osteogenesis of adipose stem cells. *Cell Proliferation*, 45(2), 158-166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2011.00802.x>
- Yang, X., Lu, X., Lombès, M., Rha, G. B., Chi, Y.-I., Guerin, T. M., Smart, E. J., & Liu, J. (2010). The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase. *Cell Metabolism*, 11(3), 194-205. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.02.003>
- Yang, W., Thein, S., Lim, C.-Y., Ericksen, R. E., Sugii, S., Xu, F., Robinson, R. C., Kim, J. B., & Han, W. (2014). Arp2/3 complex regulates adipogenesis by controlling cortical actin remodelling. *Biochemical Journal*, 464(2), 179-192. <https://doi.org/10.1042/BJ20140805>
- Yang, Z.-H., Miyahara, H., & Hatanaka, A. (2011). Chronic administration of palmitoleic acid reduces

- insulin resistance and hepatic lipid accumulation in KK-Ay Mice with genetic type 2 diabetes. *Lipids in Health and Disease*, 10, 120. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-120>
- Yau, W. W., Singh, B. K., Lesmana, R., Zhou, J., Sinha, R. A., Wong, K. A., Wu, Y., Bay, B.-H., Sugii, S., Sun, L., & Yen, P. M. (2019). Thyroid hormone (T3) stimulates brown adipose tissue activation via mitochondrial biogenesis and MTOR-mediated mitophagy. *Autophagy*, 15(1), 131-150. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1511263>
- Ye, L., Kleiner, S., Wu, J., Sah, R., Gupta, R. K., Banks, A. S., Cohen, P., Khandekar, M. J., Boström, P., Mepani, R. J., Laznik, D., Kamenecka, T. M., Song, X., Liedtke, W., Mootha, V. K., Puigserver, P., Griffin, P. R., Clapham, D. E., & Spiegelman, B. M. (2012). TRPV4 is a regulator of adipose oxidative metabolism, inflammation, and energy homeostasis. *Cell*, 151(1), 96-110. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.034>
- Yeo, C. R., Agrawal, M., Hoon, S., Shabbir, A., Shrivastava, M. K., Huang, S., Khoo, C. M., Chhay, V., Yassin, M. S., Tai, E. S., Vidal-Puig, A., & Toh, S.-A. (2017). SGBS cells as a model of human adipocyte browning : A comprehensive comparative study with primary human white subcutaneous adipocytes. *Scientific Reports*, 7(1), 4031. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04369-2>
- Yoneshiro, T., Wang, Q., Tajima, K., Matsushita, M., Maki, H., Igarashi, K., Dai, Z., White, P. J., McGarrah, R. W., Ilkayeva, O. R., Deleye, Y., Oguri, Y., Kuroda, M., Ikeda, K., Li, H., Ueno, A., Ohishi, M., Ishikawa, T., Kim, K., ... Kajimura, S. (2019). BCAA catabolism in brown fat controls energy homeostasis through SLC25A44. *Nature*, 572(7771), 614-619. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1503-x>
- Yore, M. M., Syed, I., Moraes-Vieira, P. M., Zhang, T., Herman, M. A., Homan, E. A., Patel, R. T., Lee, J., Chen, S., Peroni, O. D., Dhaneshwar, A. S., Hammarstedt, A., Smith, U., McGraw, T. E., Saghatelian, A., & Kahn, B. B. (2014). Discovery of a class of endogenous mammalian lipids with anti-diabetic and anti-inflammatory effects. *Cell*, 159(2), 318-332. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.035>
- Young, L. R., & Nestle, M. (2002). The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. *American Journal of Public Health*, 92(2), 246-249. <https://doi.org/10.2105/ajph.92.2.246>
- Young, P., Arch, J. R., & Ashwell, M. (1984). Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. *FEBS Letters*, 167(1), 10-14. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)80822-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)80822-4)
- Young, S. G., Fong, L. G., Beigneux, A. P., Allan, C. M., He, C., Jiang, H., Nakajima, K., Meiyappan, M., Birrane, G., & Ploug, M. (2019). Gpihbp1 and lipoprotein lipase, partners in plasma triglyceride metabolism. *Cell Metabolism*, 30(1), 51-65. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.023>
- Yu, X. X., Barger, J. L., Boyer, B. B., Brand, M. D., Pan, G., & Adams, S. H. (2000). Impact of endotoxin on UCP homolog mRNA abundance, thermoregulation, and mitochondrial proton leak kinetics. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 279(2), E433-446. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.279.2.E433>
- Yuan, Y., Hu, R., Park, J., Xiong, S., Wang, Z., Qian, Y., Shi, Z., Wu, R., Han, Z., Ong, S.-G., Lin, S., Varady, K. A., Xu, P., Berry, D. C., Shu, G., & Jiang, Y. (2024). Macrophage-derived chemokine CCL22 establishes local LN-mediated adaptive thermogenesis and energy expenditure. *Science Advances*, 10(26), eadn5229. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn5229>
- Zayzafoon, M., Gathings, W. E., & McDonald, J. M. (2004). Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis. *Endocrinology*, 145(5), 2421-2432. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1156>
- Zaragosi, L.-E., Ailhaud, G., & Dani, C. (2006). Autocrine fibroblast growth factor 2 signaling is critical

- for self-renewal of human multipotent adipose-derived stem cells. *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 24(11), 2412-2419. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0006>
- Zechner, R., & Langin, D. (2014). Hormone-sensitive lipase deficiency in humans. *Cell Metabolism*, 20(2), 199-201. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.018>
- Zhang, H. H., Halbleib, M., Ahmad, F., Manganiello, V. C., & Greenberg, A. S. (2002). Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes*, 51(10), 2929-2935. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.10.2929>
- Zhang, P., Iwasaki-Arai, J., Iwasaki, H., Fenyus, M. L., Dayaram, T., Owens, B. M., Shigematsu, H., Levantini, E., Huettner, C. S., Lekstrom-Himes, J. A., Akashi, K., & Tenen, D. G. (2004). Enhancement of hematopoietic stem cell repopulating capacity and self-renewal in the absence of the transcription factor C/EBP alpha. *Immunity*, 21(6), 853-863. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.11.006>
- Zhang, Y., Li, R., Meng, Y., Li, S., Donelan, W., Zhao, Y., Qi, L., Zhang, M., Wang, X., Cui, T., Yang, L.-J., & Tang, D. (2014). Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes*, 63(2), 514-525. <https://doi.org/10.2337/db13-1106>
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425-432. <https://doi.org/10.1038/372425a0>
- Zhang, Y., Xie, C., Wang, H., Foss, R. M., Clare, M., George, E. V., Li, S., Katz, A., Cheng, H., Ding, Y., Tang, D., Reeves, W. H., & Yang, L.-J. (2016). Irisin exerts dual effects on browning and adipogenesis of human white adipocytes. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 311(2), E530-541. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00094.2016>
- Zhang, Y., Xie, L., Gunasekar, S. K., Tong, D., Mishra, A., Gibson, W. J., Wang, C., Fidler, T., Marthaler, B., Klingelhutz, A., Abel, E. D., Samuel, I., Smith, J. K., Cao, L., & Sah, R. (2017). SWELL1 is a regulator of adipocyte size, insulin signalling and glucose homeostasis. *Nature Cell Biology*, 19(5), 504-517. <https://doi.org/10.1038/ncb3514>
- Zhao, C., Sun, Q., Tang, L., Cao, Y., Nourse, J. L., Pathak, M. M., Lu, X., & Yang, Q. (2019). Mechanosensitive ion channel piezo1 regulates diet-induced adipose inflammation and systemic insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 373. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00373>
- Zhao, J. Y., Zhou, L. J., Ma, K. L., Hao, R., & Li, M. (2024). MHO or MUO? White adipose tissue remodeling. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 25(4), e13691. <https://doi.org/10.1111/obr.13691>
- Zhao, N., Wang, X., Wang, Y., Yao, J., Shi, C., Du, J., & Bai, R. (2021). The effect of liraglutide on epicardial adipose tissue in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Research*, 2021, 5578216. <https://doi.org/10.1155/2021/5578216>
- Zhao, Q., Zhou, H., Chi, S., Wang, Y., Wang, J., Geng, J., Wu, K., Liu, W., Zhang, T., Dong, M.-Q., Wang, J., Li, X., & Xiao, B. (2018). Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel. *Nature*, 554(7693), 487-492. <https://doi.org/10.1038/nature25743>
- Zhao, Y., Li, X., Yang, L., Eckel-Mahan, K., Tong, Q., Gu, X., Kolonin, M. G., & Sun, K. (2018). Transient overexpression of vascular endothelial growth factor a in adipose tissue promotes energy expenditure via activation of the sympathetic nervous system. *Molecular and Cellular Biology*, 38(22), e00242-18. <https://doi.org/10.1128/MCB.00242-18>
- Zhuo, S., Bai, M., Wang, Z., Chen, L., Li, Z., Zhu, X., Chen, J., Ye, X., Guo, C., & Chen, Y. (2024).

- Glycogen synthesis is required for adaptive thermogenesis in beige adipose tissue and affects diet-induced obesity. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 326(5), E696-E708. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00074.2024>
- Ziegler, O., Quilliot, D., & Guerci, B. (2000). [Physiopathology of obesity. Dietary factors, and regulation of the energy balance]. *Annales D'endocrinologie*, 61 Suppl 6, 12-23.
- Zimmermann, R., Strauss, J. G., Haemmerle, G., Schoiswohl, G., Birner-Gruenberger, R., Riederer, M., Lass, A., Neuberger, G., Eisenhaber, F., Hermetter, A., & Zechner, R. (2004). Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science (New York, N.Y.)*, 306(5700), 1383-1386. <https://doi.org/10.1126/science.1100747>
- Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I., Mizuno, H., Alfonso, Z. C., Fraser, J. K., Benhaim, P., & Hedrick, M. H. (2002). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell*, 13(12), 4279-4295. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0105>
- Zweytick, D., Athenstaedt, K., & Daum, G. (2000). Intracellular lipid particles of eukaryotic cells. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1469(2), 101-120. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(00\)00294-7](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(00)00294-7)
- Zwick, R. K., Guerrero-Juarez, C. F., Horsley, V., & Plikus, M. V. (2018). Anatomical, physiological, and functional diversity of adipose tissue. *Cell Metabolism*, 27(1), 68-83. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.12.002>

# Annexes

## Annexe 1 : Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale

**Batrow PL**, Mothe-Satney I, Amri EZ. Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale [Thermoneutrality and animal study]. *Med Sci (Paris)*. 2023 Dec;39(12):937-944. French. doi: 10.1051/medsci/2023176. Epub 2023 Dec 18. PMID: 38108724.

## Annexe 2 : . The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocyte

Colson C, **Batrow PL**, Gautier N, Rochet N, Ailhaud G, Peiretti F, Amri EZ. The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocytes. *Cells*. 2020 Nov 7;9(11):2433. doi: 10.3390/cells9112433. PMID: 33171828; PMCID: PMC7695189.

## Annexe 3 : Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2.

Colson C, **Batrow PL**, Dieckmann S, Contu L, Roux CH, Balas L, Vigor C, Fourmaux B, Gautier N, Rochet N, Bernoud-Hubac N, Durand T, Langin D, Klingenspor M, Amri EZ. Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2. *Cells*. 2023 Jan 30;12(3):446. doi: 10.3390/cells12030446. PMID: 36766790; PMCID: PMC9913700.

## Annexe 1 : Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale

**Batrow PL**, Mothe-Satney I, Amri EZ. Thermoneutralité chez la souris et expérimentation animale [Thermoneutrality and animal study]. *Med Sci (Paris)*. 2023 Dec;39(12):937-944. French. doi: 10.1051/medsci/2023176. Epub 2023 Dec 18. PMID: 38108724.

## Annexe 2 : . The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocytes

Colson C, **Batrow PL**, Gautier N, Rochet N, Ailhaud G, Peiretti F, Amri EZ. The Rosmarinus Bioactive Compound Carnosic Acid Is a Novel PPAR Antagonist That Inhibits the Browning of White Adipocytes. *Cells*. 2020 Nov 7;9(11):2433. doi: 10.3390/cells9112433. PMID: 33171828; PMCID: PMC7695189.

## Annexe 3 : Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2.

Colson C, **Batrow PL**, Dieckmann S, Contu L, Roux CH, Balas L, Vigor C, Fourmaux B, Gautier N, Rochet N, Bernoud-Hubac N, Durand T, Langin D, Klingenspor M, Amri EZ. Effects of Fatty Acid Metabolites on Adipocytes Britening: Role of Thromboxane A2. *Cells*. 2023 Jan 30;12(3):446. doi: 10.3390/cells12030446. PMID: 36766790; PMCID: PMC9913700.



