
OBÉSITÉ ET RISQUES CARDIOVASCULAIRES

1. Les facteurs de risque cardiovasculaire de l'obésité avec ou sans syndrome métabolique

L'obésité, notamment intra-abdominale ou viscérale, a un effet délétère sur plusieurs voies métaboliques, menant ainsi au développement de plusieurs pathologies comme certains types de cancers, certaines anomalies respiratoires, neurologiques et orthopédiques, mais plus particulièrement sur l'incidence des maladies cardiovasculaires et du diabète de type 2. En effet, l'obésité, surtout quant elle est intra-abdominale, représente un facteur de risque majeur dans l'apparition du syndrome métabolique. Selon le *National Cholesterol Education Program* américain (NCEP-ATPIII, 2001), le syndrome métabolique se définit par la présence de 3 ou plus des facteurs de risque suivant : Tour de taille >102 cm chez l'homme, >88 cm chez la femme ; Pression artérielle $\geq 130/85$ mmHg ; Triglycérides $\geq 1,50$ g/L; HDL cholestérol <0,40 g/L chez l'homme, <0,50 g/L chez la femme ; Glycémie à jeun $\geq 1,10$ g/L (Alberti et Coll., 2006). Plusieurs études ont montré que le syndrome métabolique est associé à un risque 1.5 à 3 fois plus élevé de développer une maladie cardiovasculaire (Alexander et coll., 2003 ; Dekker et coll., 2005 ; Isomaa et coll., 2001). Quant au risque de développer le diabète de type 2, certaines études ont montré un risque jusqu'à 5 fois plus élevé en présence d'un syndrome métabolique (Hanson et coll., 2002 ; Schmidt et coll., 2005). L'objectif de cette section vise à réviser les connaissances actuelles concernant les facteurs de risque cardiovasculaire associés à l'obésité. Les principaux travaux présentés dans cette section reposent sur l'hypothèse que la distribution du tissu adipeux joue un rôle majeur dans le développement des maladies cardiovasculaires et métaboliques.

1.1 Masse grasse/Obésité abdominale

D'un point de vue médical, l'obésité se définit comme un excès de masse grasse entraînant des inconvénients pour la santé somatique, psychologique et sociale. En pratique clinique courante, l'estimation de la masse grasse est basée sur des mesures anthropométriques telles que le poids, la taille, les plis cutanés et les circonférences (ANAES, 2003). Chez l'adulte, l'OMS définit l'obésité en fonction de l'Indice de Masse Corporelle (IMC). Celui-ci est calculé par la formule suivante : $IMC (kg/m^2) = Poids (kg) / Taille^2 (m^2)$. Depuis 1998, le critère international d'embonpoint correspond à un IMC supérieur ou égal à $25 kg/m^2$, et celui de l'obésité est supérieur ou égal à $30 kg/m^2$. Quant à l'obésité morbide, elle est caractérisée par un IMC supérieur ou égal à $40 kg/m^2$ (NHLBI, 1998). L'obésité représente un facteur de risque important pour les maladies cardiovasculaires. Par exemple, les sujets obèses ont un risque 2 à 3 fois plus élevé qu'un sujet sain de développer une maladie coronarienne (Aldhahi et coll., 2003). Il est d'autant plus élevé lorsque l'individu obèse cumule un ou plusieurs autres facteurs de risque comme le diabète de type 2. Dans ces conditions, l'éventualité de développer une maladie coronarienne est 3 à 4 fois supérieure par rapport à une personne obèse non diabétique (Aldhahi et coll., 2003). De plus, il existe une relation positive entre l'IMC et le risque de mortalité (figure 1).

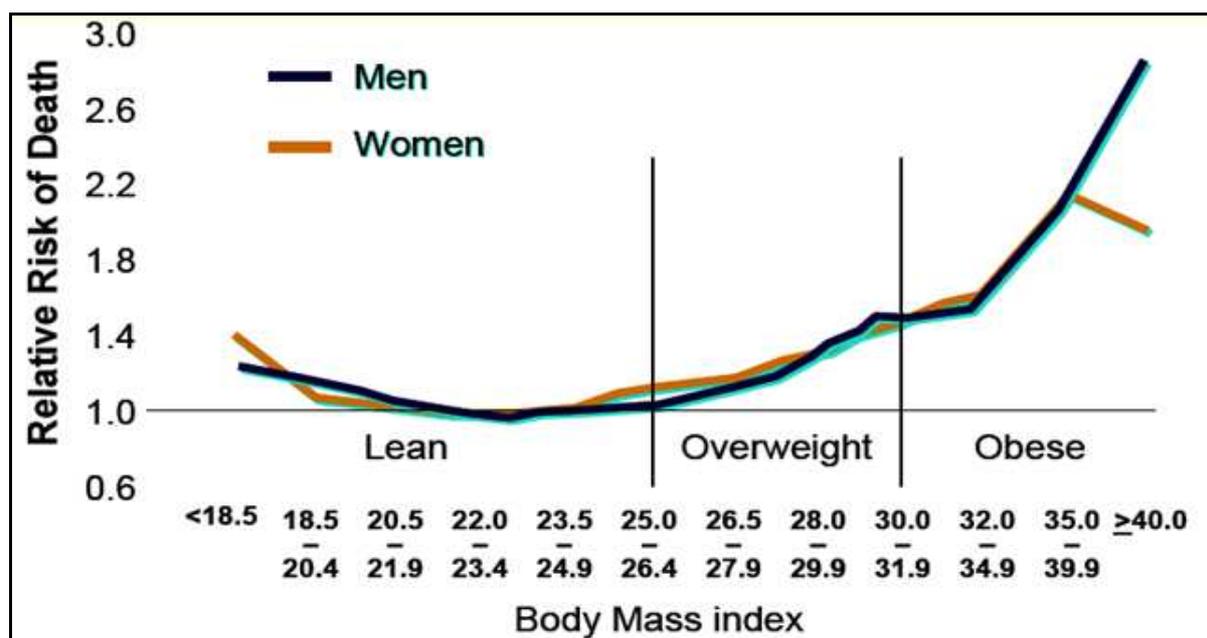


Figure 1 : Relation entre l'indice de masse corporelle (IMC en kg/m^2) et le risque relatif de mortalité (d'après Calle et Coll., 1999).

Bien que l'IMC soit un bon outil pour le dépistage de l'obésité, cet indice ne donne cependant aucune information sur la composition corporelle (les proportions de masse grasse et de masse maigre), ni sur la distribution du tissu adipeux, qui peuvent toutes les deux être très variables selon les individus. Il est maintenant admis qu'indépendamment de l'IMC, l'excès de tissu adipeux au niveau de la cavité abdominale (obésité de type androïde) est beaucoup plus néfaste pour la santé qu'au niveau des cuisses et des hanches (obésité de type gynoïde). L'obésité androïde serait la forme la plus néfaste pour la prévalence du syndrome métabolique (Despres, 2006). Dans cette optique, Yusuf et coll., (2003) ont démontré qu'à l'intérieur de chaque catégorie d'IMC, une augmentation du rapport taille/hanches (indice pour estimer l'accumulation du tissu adipeux au niveau abdominal) est associée à une augmentation subséquente du risque d'infarctus du myocarde. De plus, il a été observé que les sujets obèses ayant une faible quantité de tissu adipeux viscéral ont une tolérance au glucose similaire à ceux de poids normal (Pouliot et coll., 1992). Récemment, l'étude transversale

International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA) a démontré aussi l'importance de la circonférence de la taille en tant que variable associée au risque de maladies cardiovasculaires et de diabète de type 2 (Balkau et coll., 2007). Ces résultats montrent qu'en plus d'une augmentation de la masse grasse, la distribution du tissu adipeux est un élément important dans la physiopathologie cardiovasculaire liée à l'obésité.

1.2 L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle constitue un facteur de risque majeur pour de nombreuses maladies cardiovasculaires. Il existe une relation étroite entre les niveaux élevés de tissu adipeux viscéral et l'hypertension artérielle, comparativement aux niveaux de tissu adipeux sous-cutané. À ce sujet, Kanai et coll., (1990) ont démontré chez des femmes obèses qu'un rapport tissu adipeux viscéral/tissu adipeux sous-cutané élevé était associé à une pression artérielle élevée, et ce, indépendamment de l'âge et de l'indice de masse corporelle. Plus récemment, les travaux de Hayashi et coll., (2003) ont également montré qu'une accumulation importante de tissu adipeux viscéral était associée à une augmentation de la prévalence de l'hypertension. D'autres études ont également rapporté une élévation de la pression artérielle dans le modèle animal d'obésité (obésité induite par un régime riche en lipide) (Dobrian et coll., 2001; Yoshioka et coll., 2000).

1.3 Les dyslipidémies

La dyslipidémie athérogène constitue, avec l'hypertension et la résistance à l'insuline, un des principaux maillons reliant l'obésité et le syndrome métabolique à l'augmentation du risque de maladies cardiovasculaires (Alberti et coll., 2005). L'obésité augmente le risque de

maladies cardiovasculaires en modifiant négativement le profil lipidique (Ginsberg et coll., 2009). Plusieurs anomalies du profil des lipides et des lipoprotéines ont été retrouvées chez les individus obèses. En effet, l'obésité viscérale est associée à une augmentation significative des taux de triglycérides, à des niveaux abaissés d'HDL ainsi qu'à une augmentation de l'apolipoprotéine B, ce qui se caractérise par un nombre plus élevé de particules LDL petites et denses (Grundy, 2006 ; Reaven, 2005; Ruotolo et Howard, 2002), elles-mêmes associées au développement de la plaque athéromateuse (puisque ces particules possèdent des propriétés hautement athérogènes) et ultimement aux complications cardiovasculaires (Zambon et coll., 1999). En effet, les particules LDL petites et denses demeurent plus longtemps dans la circulation, s'infiltrant plus facilement dans la membrane de la paroi endothéliale, adhèrent aux molécules d'adhésion, sont plus susceptibles à l'oxydation et se lient davantage aux récepteurs « *scavengers* » des macrophages. Ces propriétés ont donc pour conséquence de contribuer à la formation et à l'instabilité de la plaque athéromateuse (Zambon et coll., 1999). D'autre part, il a été rapporté que l'hyperlipidémie postprandiale retrouvée chez les sujets obèses pourrait aussi contribuer au développement prématuré de l'athérosclérose (Nordestgaard et coll., 2007). Il est à noter que la perte de poids est associée à une amélioration du profil lipidique, conduisant à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires (Selwyn et coll., 2007).

1.4 Le Diabète de type 2 et la résistance à l'insuline

Un excès pondéral est présent chez plus de 80 % des individus atteints de diabète de type 2 (Mokdad et coll., 2000). Le risque de développer ce type de diabète augmente considérablement en fonction des différentes catégories d'obésité. À ce sujet, Field et coll., (2001) ont rapporté que les sujets obèses (IMC > 35 kg/m²) avaient un risque de développer

un diabète de type 2 vingt fois supérieur à celui des individus normo-pondérés (IMC entre 18,5 et 25 kg/m²). De plus, la durée de l'obésité, indépendamment des autres facteurs de risque, est également un important prédicateur de la maladie (Sakurai, 2000). D'autre part, il a été rapporté que les maladies cardiovasculaires seraient les principales causes de mortalité et de morbidité chez les sujets diabétiques de type 2. À ce sujet, Haffner et coll., (1998) ont observé que l'incidence d'un premier infarctus du myocarde ou de mort subite était de 20% chez les sujets diabétiques de type 2, comparativement à 3,5 % chez les sujets non diabétiques. La résistance à l'insuline est reconnue actuellement comme étant le lien entre l'obésité et le diabète de type 2 (Fève et coll., 2006). L'expression "résistance à l'insuline" est surtout utilisée pour désigner une réduction de l'efficacité gluco-régulatrice de l'hormone (Wheatcroft et coll., 2003). Elle se manifeste par une diminution de l'assimilation du glucose par les muscles et le tissu adipeux, et par une incapacité de l'insuline à inhiber la néoglucogenèse au niveau du foie, entraînant ainsi une hyperglycémie.

La stimulation du récepteur de l'insuline est à l'origine de l'activation de deux grandes voies de signalisation : la voie des MAP kinases et la voie de la PI-3 kinase, qui conduisent de manière respective aux effets mitogéniques et métaboliques de l'hormone (Capeau, 2005). Dans la présente thèse, nous nous sommes intéressés principalement à la description de la voie de la PI-3 kinase. Au niveau des cellules cibles (principalement musculaires et adipeuses), la liaison de l'insuline à son récepteur membranaire entraîne l'activation de ce dernier via un processus d'autophosphorylation des résidus tyrosine de la sous-unité β du récepteur. Il s'ensuit alors plusieurs étapes de phosphorylation, lesquelles ont pour effet d'activer de manière successive différents substrats et enzymes impliqués dans la voie de signalisation. Ainsi, en tout premier lieu, la phosphorylation du substrat intracellulaire IRS-1 induit à son tour l'activation de la PI3-kinase, qui elle, entraîne l'activation de la sérine kinase PDK-1/2, puis l'activation de l'Akt/PKB et des PKC- ζ/λ . Ces dernières kinases conduiront à

la translocation vers la membrane cellulaire des transporteurs de glucose GLUT4, qui réaliseront l'étape ultime: la captation du glucose (Montagnani et Coll., 2001).

Il semble que des altérations signalétiques, en aval du récepteur de l'insuline, soient à l'origine de la résistance à l'insuline dans l'étiologie de l'obésité (Zeyda et coll., 2009). La phosphorylation d'un ou plusieurs des sites Ser/Thr de IRS-1 auraient plusieurs conséquences. Plusieurs agents/facteurs causant la résistance à l'insuline ont été identifiés comme le TNF- α , les acides gras libres et l'insuline elle-même (Zick Y, 2001). D'une façon générale, ces phosphorylations sont associées à une inhibition des fonctions de IRS-1, en entraînant : 1) une diminution de la phosphorylation de IRS-1 sur les résidus tyrosine, 2) une diminution de la liaison de la PI 3-kinase à IRS-1, 3) une inhibition de l'activité tyrosine kinase du récepteur de l'insuline et/ou 5) une dégradation de IRS-1 par les protéasomes (Zick Y, 2001). Nous reviendrons ultérieurement sur la description plus détaillée du rôle de la cytokine TNF- α dans le développement de la résistance à l'insuline au cours de l'obésité (*voir la section Contribution du tissu adipeux à l'état inflammatoire*).

D'autre part, des études centrées sur la perte de la masse adipeuse ont confirmées l'étroite relation entre l'obésité abdominale et la résistance à l'insuline. À ce sujet, Coker et coll., (2009) ont observé, chez des sujets obèses soumis à une restriction calorique ou à l'exercice physique, une amélioration considérable de la sensibilité systémique à l'insuline chez ceux ayant réduit leur quantité de tissu adipeux viscéral. L'ensemble de ces observations témoigne de l'implication du tissu adipeux viscéral dans la sensibilité à l'insuline.

Ainsi, l'accumulation du tissu adipeux, et plus particulièrement au niveau viscéral, participe au développement des complications cliniques du syndrome métabolique incluant l'hypertension artérielle, les dyslipidémies et la résistance à l'insuline, ces derniers représentant des facteurs de risque majeurs dans le développement des maladies

cardiovasculaires. D'autres facteurs de risque additionnels ont également été observés chez des patients présentant une obésité intra-abdominale. Parmi ceux-ci, on retrouve la dysfonction endothéliale.

2. La dysfonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est principalement caractérisée par une réduction de la biodisponibilité du NO, et survient souvent de façon précoce dans le développement de plusieurs pathologies cardiovasculaires (Raij et coll., 2006; Taddei et coll., 2003).

2.1 Généralités

L'ensemble des vaisseaux sanguins de l'organisme sont tapissés d'une seule couche de cellules endothéliales, qui forment l'endothélium vasculaire. Ce dernier constitue une couche semi-perméable entre les éléments circulant du sang et la paroi des vaisseaux sanguins. Il sécrète aussi des substances vasoactives (vasoconstrictrices et vasodilatatrices) qui permettent de maintenir un tonus vasculaire approprié. En condition physiologique normale, il existe un équilibre entre ces facteurs vasoactifs pour maintenir le tonus vasculaire. Parmi les substances vasoconstrictrices relâchées par l'endothélium, nous retrouvons l'endothéline-1 (ET-1), l'angiotensine II (l'Ang II), le thromboxane A₂ (TXA₂) et les radicaux libres oxygénés (ROS). Les substances vasodilatatrices sont représentées par le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline (PGI₂), le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) et la bradykinine (BK). Parmi les substances citées ci-dessus, le NO représente la principale substance protectrice synthétisée par l'endothélium (Wheatcroft et coll., 2003). En effet, au niveau de la cellule endothéliale, le NO inhibe la production d'ET-1, l'oxydation des LDL,

l'expression de molécules d'adhésion et par conséquent, l'adhésion des leucocytes (Vanhoutte, 2003). À l'extérieur de la cellule, il favorise la relaxation des fibres musculaires lisses des vaisseaux, inhibe l'agrégation plaquettaire, empêche la prolifération des cellules musculaires lisses et exerce une action anti-inflammatoire et anti-oxydante (Boulanger, 1999 ; Kurowska, 2002; Shaul, 2002; Vanhoutte, 2003).

Le NO est un gaz liposoluble synthétisé par les NOS. En présence de NADPH, d'oxygène, de BH₄, de FAD et de FMN, les NOS catalysent dans une première étape l'oxydation de la L-arginine en N^o-hydroxy-L-arginine. Dans une deuxième étape, la N^o-hydroxy-L-arginine est transformée en L-citrulline et NO. Dans la paroi vasculaire, le NO diffuse de l'endothélium vers la cellule musculaire lisse en traversant librement les membranes cellulaires. Dans celles-ci, le NO se lie à la sGC qui produit alors de grandes quantités de GMPc. La GMPc active la PKG qui, à son tour, entraîne une diminution de la concentration intracellulaire en calcium, induisant la vasorelaxation.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le NO est produit par la famille des NOS. Cette dernière comprend trois membres : la NOS neuronale (nNOS), la NOS inducible (iNOS) et la NOS endothéliale (eNOS). Parmi eux, c'est la eNOS qui représente le principal isoforme impliqué dans le maintien des fonctions vasculaires. L'activité de l'enzyme eNOS peut être régulée par différents facteurs, notamment par des changements de la concentration intracellulaire de Ca²⁺, ce qui affecte sa liaison avec la calmoduline (Domenico, 2004 ; Walford et Loscalzo, 2003). En effet, il a été démontré que certains agonistes, comme l'acétylcholine et la bradykinine, pouvaient stimuler la eNOS en augmentant les concentrations de calcium cytosolique (figure 2). La liaison de ces substances vasodilatatrices à leur récepteur a pour effet d'induire une augmentation de la production d'IP-3. En retour, cela entraîne une augmentation de la libération du Ca²⁺, ainsi qu'une augmentation de sa liaison à la calmoduline. Le complexe ainsi formé peut se fixer à la protéine eNOS et ainsi

augmenter son activité. D'autre part, la protéine eNOS peut aussi être activée par une autre voie indépendante au Ca^{2+} (figure 2). À cet égard, il a été rapporté que l'insuline pouvait agir au niveau de l'endothélium vasculaire, et induire la production de NO par un mécanisme indépendant du calcium (Vincent et coll., 2003 ; Montagnani et coll., 2001).

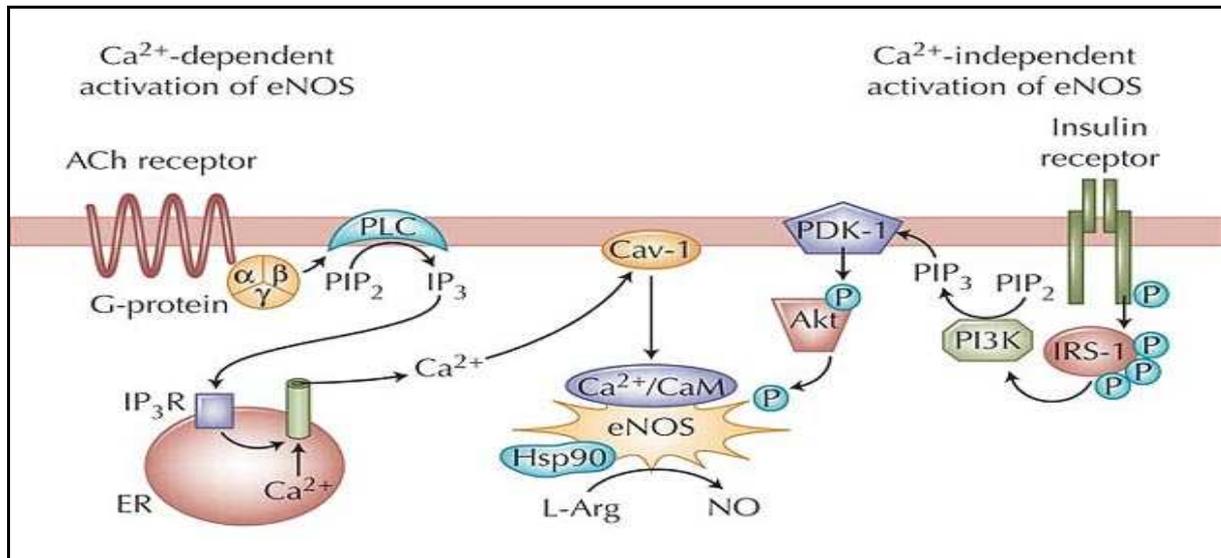


Figure 2. Voie d'activation d'eNOS dépendante ou indépendante du calcium (d'après Vincent et coll., 2003)

L'activation de la eNOS peut également se faire par des stimuli mécaniques, comme les forces de cisaillement (Shear stress) qu'exerce le déplacement du sang sur la surface des cellules endothéliales. Ces forces orientées longitudinalement varient avec le débit sanguin local et les conditions d'écoulement. Les contraintes de cisaillement stimulent des récepteurs membranaires sensibles à l'étirement de la cellule. Ces mécanosenseurs ainsi activés déclenchent des cascades complexes d'événements biochimiques, qui conduisent à des changements fonctionnels dans la cellule comme par exemple une activation de la transcription du gène codant pour la eNOS. L'induction de l'ARNm de la eNOS est d'autant plus importante que les forces de cisaillement sont importantes. Les forces de cisaillement activent la eNOS par un mécanisme calcium-indépendant qui nécessite la phosphorylation de

la eNOS (Corson et coll., 1996) (figure 3). Cette modification post-traductionnelle survient sur le résidu sérine 1177 de la eNOS et est médiée par la phosphorylation de l'Akt sur le résidu sérine 473 (Lehoux et coll., 2004). Il est à noter que ce mécanisme occupe une place cruciale dans la régulation de la eNOS par l'exercice physique.

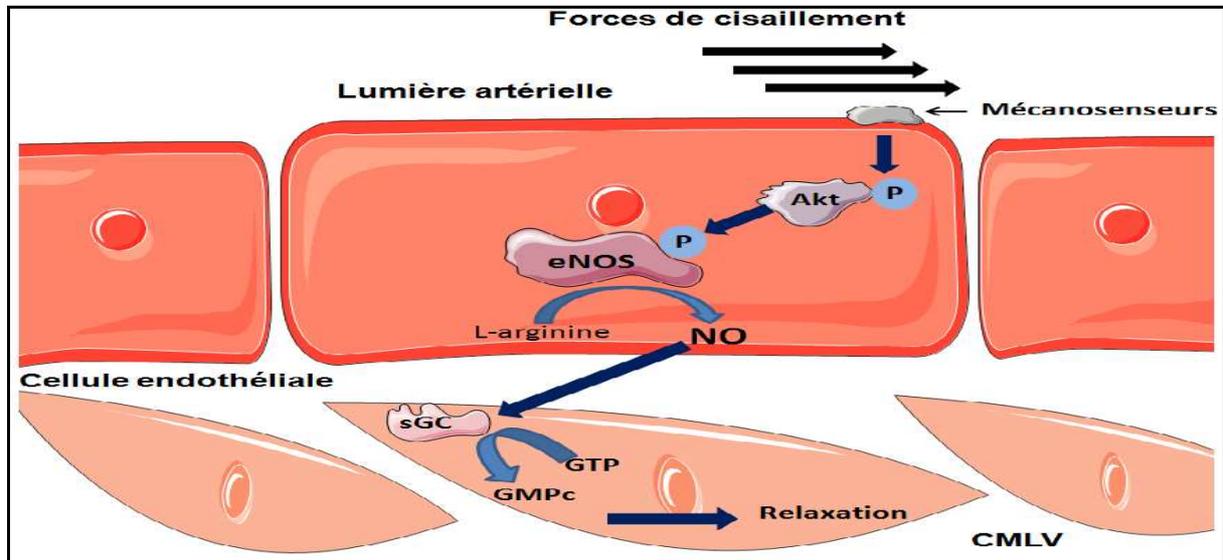


Figure 3. Activation de la eNOS par les forces de cisaillements.

2.2 Evaluation de la fonction endothéliale

La fonction endothéliale peut être explorée chez l'homme et l'animal par des méthodes fonctionnelles, en réponse à des stimuli pharmacologiques ou physiologiques.

2.2.1 Méthode d'évaluation chez l'homme

Les premières études de la fonction endothéliale chez l'homme ont consisté en des mesures par angiographie quantitative de variations du diamètre des artères coronaires, en réponse à des perfusions locales d'acétylcholine à faibles doses (Cox et coll., 1989 ; Ludmer et coll., 1986). Ces études de flux coronariens ont été les premières à mettre en évidence des altérations de la fonction endothéliale chez des sujets atteints de maladies coronariennes.

Actuellement, de nouvelles techniques d'échographie-doppler et d'ultrasonographie vasculaires ont remplacé l'angiographie quantitative pour l'évaluation des variations de flux sanguins coronariens (Deanfield et coll., 2005; Le Brocq et coll., 2008). D'autre part, il existe une relation positive entre la mesure de la dysfonction endothéliale au niveau coronarien et celle au niveau de l'artère brachiale (Anderson et coll., 1995). Ainsi, il est possible de mesurer des variations de débit sanguin au niveau de l'avant-bras « *Forearm blood flow* » (FBF,) après administration d'acétylcholine au niveau de l'artère brachiale. La résistance vasculaire est généralement évaluée par la mesure du débit sanguin et de la pression artérielle à l'aide d'un système de pléthysmographie par occlusion veineuse. Cette méthode est considérée comme étant beaucoup moins invasive pour l'homme, mais la cathétérisation de l'artère brachiale limite son utilisation à grande échelle (Takase et coll., 2005).

De plus, la dysfonction endothéliale peut être évaluée par des dosages biologiques. Ces derniers présentent l'avantage de leur simplicité sur le plan clinique puisqu'il s'agit généralement de dosages de facteurs circulants d'origine endothéliale, réalisés à partir de prélèvements sanguins ou urinaires (tableau 1). Cependant, ces dosages donnent une information générale sur la fonction endothéliale, mais ils ne sont pas spécifiques à un territoire artériel donné. Ils indiquent plutôt un état d'activation qu'un état de dysfonction endothéliale. En plus, ces dosages nécessitent des conditions délicates de prélèvement ou d'analyse non disponibles en routine.

Table 1. Marqueurs plasmatiques de la dysfonction endothéliale (d'après Joannides et coll., 1997)

Vasodilatateurs	Nitrates et nitrites (métabolites du monoxyde d'azote), 6-kéto PGF1a (métabolite de la prostacycline)
Vasoconstricteurs	ET-1, Ag II, thromboxane A2, ROS, prostaglandine
Marqueurs de l'inflammation	CRP, molécules d'adhésion cellulaire (sélectine P et E, ICAM, VCAM), MCP-I, interleukines (IL-6, IL-8), TNF- α
Marqueurs de l'hémostase	tPA, PAI-I, facteur Von Willebrand (vWF), thrombomoduline
Autres	Dérivés asymétriques de la L-arginine (ADMA), microparticules apoptoïques, VEGF

2.2.2 Méthode d'évaluation chez l'animal

L'utilisation d'anneaux aortiques isolés de lapin a permis de démontrer le rôle clé de l'endothélium dans la relaxation vasculaire (Furchgott et Zawadzki, 1980). Cette méthode de bains d'organes isolés est devenue la technique standard d'exploration de la fonction endothéliale *ex-vivo*. L'évaluation de la réponse vasodilatatrice endothélium-dépendante ou endothélium-indépendante est réalisée sur des segments d'artères de conduction (aorte, artère brachiale, artère fémoral...) et/ou d'artères de résistance (coronaire, mésentérique...) en réponse à différentes substances vaso-actives à l'aide d'un myographe. Parallèlement aux méthodes d'exploration *in-vivo* de la fonction endothéliale chez l'homme, des techniques hémodynamiques ont été développées chez l'animal (Heiss et coll., 2008). Ainsi, des cathéters peuvent être placés au niveau de l'aorte, du sinus coronarien ou des artères fémorales afin de mesurer les variations des flux sanguins en réponse à des injections de substances vaso-

actives, administrées à l'aide de cathéters placés au niveau de la veine fémorale et/ou de la veine jugulaire externe (Le Brocq et coll., 2008). Généralement, ces mesures sont réalisées sur des animaux anesthésiés, ce qui peut altérer les réponses hémodynamiques aux substances pharmacologiques. Actuellement, des systèmes de pléthysmographie à occlusion veineuse et de télémétrie permettent de travailler sur des animaux vigiles.

2.3 Mécanismes biologiques impliqués dans la dysfonction endothéliale

Il est clair à l'heure actuelle que la dysfonction endothéliale est associée aux facteurs de risque qui prédisposent aux maladies cardiovasculaires tels l'obésité et le syndrome métabolique. Plusieurs études ont indiqué que la dysfonction endothéliale est principalement caractérisée par une réduction de la biodisponibilité du NO (Raij et coll., 2006; Taddei et coll., 2003). Théoriquement, cette diminution peut résulter de deux mécanismes, soit 1) une réduction de sa production ou soit 2) une augmentation de sa dégradation. Une réduction de la production de NO peut être consécutive à une réduction de l'expression et/ou de l'activité de l'enzyme eNOS, une réduction de la disponibilité de son substrat et/ou d'un ou de plusieurs cofacteurs essentiels à sa production (Kawashima et Yokoyama, 2004 ; Takaya et coll., 2007). Dans la pathologie de l'obésité, Ketonen et coll., (2010) ont montré que la consommation d'un régime alimentaire riche en matière grasse pendant 5 mois induit une diminution de la vasorelaxation NO-dépendante au niveau de l'aorte, en réponse à l'acétylcholine chez les souris obèses par rapport à des souris saines. Cette même étude a montré également une diminution du rapport p-eNOS^{sérine 1177}/eNOS aortique, suggérant une diminution de l'activité de la eNOS chez les souris obèses. Des résultats similaires ont également été rapportés dans différents modèles d'obésité, qu'elle soit induite par l'alimentation (Roberts et coll., 2005 ; Bourgoin et coll., 2008) ou qu'elle soit génétique (Agoun et coll., 2009).

Par ailleurs, une dégradation accrue du NO peut être causée par un stress oxydatif consécutif à une production excessive de radicaux libres. Nous reviendrons ultérieurement sur la description plus détaillée du rôle des radicaux libres dans le développement de la dysfonction endothéliale (*voir la section Stress oxydatif et facteurs de risque cardiovasculaires : observations cliniques et expérimentales*).

En somme, l'endothélium joue un rôle primordial dans la régulation de l'homéostasie et du tonus vasculaire. Cependant, il est aussi le premier organe à subir une altération due aux facteurs de risque cardiovasculaire comme l'obésité et le syndrome métabolique, car l'équilibre entre la synthèse des substances vasoconstrictrices et vasodilatatrices est alors rompu, aboutissant ainsi à une altération de la fonction vasodilatatrice de l'endothélium. Cette dysfonction endothéliale représente une étape clé dans les pathologies installées comme l'athérosclérose. Ainsi, les mécanismes par lesquels l'obésité induit une dysfonction endothéliale sont complexes, et l'étiologie exacte de ce processus est toujours au cœur de la recherche actuelle. Cette situation à risque cardiovasculaire est également associée étroitement à la surproduction des ROS (comme nous allons le décrire dans le chapitre suivant), qui entraîne une accélération de la dégradation du NO. Ainsi, le stress oxydatif est considéré comme le phénomène clé impliqué dans la diminution de la biodisponibilité du NO.

3. Le stress oxydatif

3.1 Définition

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants, entraînant des dommages cellulaires (Atamer et coll., 2008). Il se développe lorsque les radicaux libres (molécules oxydantes) sont

produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydant. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire (Picchi et coll., 2006), un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques) (Moller et coll., 1996 ; Valko et coll., 2006; Valko et coll., 2005).

3.2 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant au moins un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche externe, et sont en général très réactifs et instables (Gilbert, 2000). Les radicaux libres impliquant un ou plusieurs atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'anion superoxyde est la forme primaire des ROS, et est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ROS secondaires tels que le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le radical peroxy ($ROO\cdot$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non apparié, mais se révèle tout de même réactif. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote (RNS). Parmi ces molécules, il y a le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) et le peroxyde d'azote ($ONOO\cdot$) (Tremellen, 2008).

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans certaines fonctions biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques (Fridovich et coll., 1999; Ignarro et coll., 1999; Lander, 1997). Cependant, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques

en engendrant diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (Dalle-Donne et coll., 2006 ; Loft et coll., 2008), des protéines (Davies, 2003 ; Refsgaard et coll., 2000), ou encore la peroxydation des lipides (Dalle-Donne et coll., 2006; Spiteller et coll., 2007).

3.3 Mécanismes de production des dérivés de l'oxygène

Dans la cellule, l'anion superoxyde peut être formé par différentes enzymes telles que la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclooxygénases, les lipoxygénases, l'enzyme eNOS, le cytochrome P450 et les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale (Cai et Harrison, 2000; Wassamann et coll., 2004). La contribution relative de chacune de ces sources au cours d'un stress oxydatif n'est pas encore tout à fait élucidée. Cependant, dans un contexte de maladies vasculaires, plusieurs études expérimentales et cliniques ont révélé que l'enzyme NADPH oxydase représente la principale source de production de l'anion superoxyde au niveau vasculaire, intervenant dans plusieurs pathologies associées à la dysfonction endothéliale comme l'athérosclérose, l'hypertension, le diabète, l'obésité ou encore l'hypercholestérolémie (Hwang et coll., 2003 ; Laight et coll., 2000 ; Pierce et coll., 2009 ; Thomas et coll., 2003).

Le NADPH oxydase est un complexe enzymatique multiprotéique constituant une famille d'enzymes comptant 7 membres (Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5, Duox 1 et 2) (Bedard et Krause, 2007). Elles transfèrent successivement des électrons du NADPH jusqu'à l'accepteur final O₂, pour générer des anions superoxydes. Parmi les membres de cette famille, la gp91^{phox} (*phagocyte oxydase*) ou Nox2 est la mieux caractérisée. Cette protéine a été clonée en 1986 (gène *CYBB* sur le chromosome X, locus Xp21.1), et elle est fonctionnelle sous forme de complexe assemblé suite à un stimulus. Ce complexe comprend un cœur catalytique

membranaire (gp91^{phox} et p22^{phox}, formant le cytochrome b₅₅₈) et des protéines cytosoliques (p40^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox} et Rac) (figure 3).

Désassemblée quand elle est inactive au repos, la NADPH oxydase devient active à la suite de la translocation des facteurs cytosoliques à la membrane, formant ainsi un complexe enzymatique fonctionnel. En fait, l'activation de la NADPH oxydase implique deux types de phénomènes: la phosphorylation et la translocation à la membrane des sous-unités cytosoliques (Touyz et coll., 2003). En effet, suite à l'activation de la cellule, les composantes cytosoliques p40^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox} deviennent phosphorylées et vont migrer à la membrane pour s'associer aux facteurs membranaires gp91^{phox} et de p22^{phox}. Parallèlement, la molécule Rac va échanger son GDP avec un GTP, se dissocier de son inhibiteur Rho-GDI, et migrer de façon indépendante à la membrane. Le cytochrome b₅₅₈ est ensuite activé par la p67^{phox}, par l'intermédiaire de son domaine d'activation (figure 3). La NADPH oxydase ainsi activée va utiliser le NADPH cytosolique pour réduire l'oxygène et produire de l'anion superoxyde (Paquet et coll., 2000).

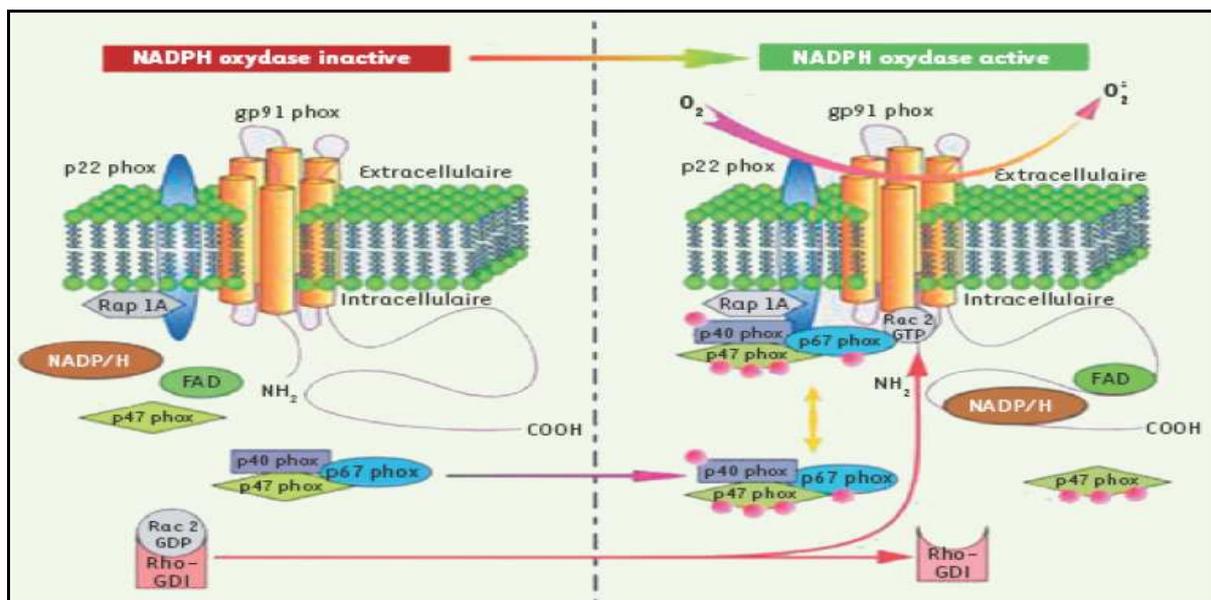


Figure 4 : Représentation schématique de l'activation de la NADPH oxydase (Deleo et Quinn, 1996)

3.4 Mécanismes de défense contre des dérivés de l'oxygène

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants, dont le rôle principal est de neutraliser et de dégrader les radicaux libres. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques.

3.4.1 Le système antioxydant enzymatique

Ce système est principalement composé des superoxydes dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathions peroxydases (GPx) et des thiorédoxines (Higashi et coll., 2009 ; Wood et coll., 2003). Parmi ces enzymes, les SOD représentent la première ligne de défense pour contrer les ROS, et ce sont les enzymes antioxydantes les plus importantes au niveau vasculaire (Higashi et coll., 2009; Wassmann et coll., 2004).

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et d'oxygène. Chez les mammifères, la SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). La Mn-SOD semble indispensable à la vie puisque sa mutation est non viable : l'espérance de vie maximale pour des souris Mn-SOD^{-/-} n'est que de 22 jours pour certains types de mutations (Huang et coll., 2001). Ceci n'est pas le cas pour la forme cytosolique, bien que l'espérance de vie chez des souris transgéniques Cu/Zn-SOD^{-/-} soit plus

faible que celle de souris Cu/Zn-SOD^{+/+} (130 semaines vs 180 semaines) (Sentman et coll., 2006). D'autre part, il a été rapporté que la Cu/Zn-SOD joue un rôle important dans la régulation de la biodisponibilité du NO et de la fonction endothéliale. À ce sujet, Lynch et coll., (1997) ont montré que l'inhibition de la Cu/Zn-SOD induit une dysfonction endothéliale chez des rats normaux.

3.4.2 Le système antioxydant non-enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non-enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons les oligoéléments (le cuivre, le fer, le manganèse, le sélénium et le zinc), la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone (CoQ10), l'acide ascorbique (vitamine C), l'alpha tocophérol (vitamine E) et les caroténoïdes (Vertuani, S et coll., 2004).

3.5 Stress oxydatif et facteurs de risque cardiovasculaire : observations cliniques et expérimentales

Le stress oxydatif est actuellement reconnu comme étant à l'origine ou comme représentant un facteur aggravant de plusieurs pathologies. Son implication dans l'hypertension artérielle, l'athérogénèse, la dysfonction endothéliale, le diabète ou encore l'obésité a été démontrée par différentes études (Dobrian et coll., 2001 ; Furukawa et coll., 2004 ; Gilligan et coll., 1994 ; Hornig, 2002 ; Levine et coll., 1996).

Le stress oxydant systémique augmente avec le degré d'obésité. En effet, il existe une relation positive entre les augmentations de concentrations plasmatiques des TBARS et de la 8-épi-PGF_{2alpha} (marqueurs du stress oxydant systémique), et l'IMC (Keaney et coll., 2003 ; Pou et coll., 2007). De plus, l'induction de l'obésité chez la souris, par un régime hyperlipidique, augmente significativement les concentrations plasmatiques des marqueurs de la peroxydation lipidique et induit l'oxydation de l'albumine plasmatique (Yamato et coll., 2007). Aussi, la concentration des protéines carbonylées (conséquence directe d'un stress oxydatif) dans les tissus adipeux est 2 à 3 fois plus élevée chez les souris obèses par rapport aux témoins (Grimsrud et coll., 2007). De même, il a été démontré chez la souris obèse une augmentation de la production de H₂O₂ au niveau du tissu adipeux. L'inhibition de la NADPH oxydase par l'apocynine diminue significativement cette production et améliore entre autre l'hyperinsulinémie, l'hyperglycémie et l'hypertriglycéridémie (Furukawa et coll., 2004).

D'autre part, les ROS sont capables de modifier la balance relaxation/contraction vers la contraction, jouant un rôle primordial dans la physiopathologie cardiovasculaire. En ce sens, il a été démontré que la production vasculaire d'anions superoxydes est augmentée dans divers modèles d'hypertension artérielle comme les modèles SHR (Wu et coll., 2001), par inhibition chronique de NOS (Kitamoto et coll., 2000), par infusion chronique d'Ang II (Landmesser et coll., 2002) ou encore induite par un régime hyperlipidique (Dobrian et coll., 2001). Cette production accrue d'anions superoxydes a une importance fonctionnelle sur la pression sanguine, puisque l'administration d'antioxydants de diverses natures permet de normaliser la pression artérielle des animaux (Cuzzocrea et coll., 2004 ; Negishi et coll., 2004 ; Park et coll., 2002).

Il semble que certains dérivés de l'oxygène, dont l'anion superoxyde, ont la propriété de réagir très rapidement avec le NO, et ainsi d'empêcher son action (Taddei et coll., 2003).

De nombreuses études expérimentales ont observé une augmentation de la production de ROS au niveau des artères prélevées sur des animaux obèses en comparaison à des animaux normaux (Galili et coll., 2007; Ketonen et coll., 2010; Kobayasi et coll., 2010). De plus, Roberts et coll., (2005) ont montré chez des rats obèses que la dysfonction endothéliale est liée à une activation du complexe NADPH oxydase au niveau vasculaire. D'autres études ont montré que le traitement antioxydant permet de corriger la dysfonction endothéliale. En ce sens, Hayashi et coll., (2005) ont démontré que l'inhibition de la NADPH oxydase par l'apocynine améliore la dysfonction endothéliale chez le rat diabétique. Il a été rapporté également que l'administration de molécules antioxydantes réduit l'altération de la vasodilatation NO-dépendante observée chez des animaux atteints d'obésité (Javeshghani et coll., 2009; Knight SF et coll., 2010). Ces observations nous montrent bien l'implication du stress oxydatif dans le développement de l'hypertension et de l'altération de la fonction vasculaire.

En somme, l'obésité est associée à un état de stress oxydatif, puisqu'il existe une relation positive entre les divers marqueurs du stress oxydatif systémique et le degré de l'obésité. De plus, il semble que le complexe NADPH oxydase joue un rôle important dans le développement des complications cardiométaboliques au cours de l'obésité. D'autre part, la surproduction des ROS dans l'obésité est souvent associée à un état inflammatoire. C'est pourquoi nous consacrerons la prochaine section à l'étude de la relation entre l'obésité et l'inflammation, ainsi qu'à la contribution de celle-ci dans le développement des complications cardiovasculaires liées à l'obésité.

4. L'inflammation

Actuellement, il est reconnu que l'obésité est associée à un état inflammatoire chronique, caractérisé par une production anormale de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-6) et une augmentation des niveaux circulants de marqueurs de l'inflammation systémique tels que la CRP. Certains auteurs suggèrent que cet état inflammatoire chronique pourrait être à la base des altérations cardiométaboliques comme la dysfonction endothéliale ou encore la résistance à l'insuline observées chez les individus obèses (Poitou et coll., 2005 ; Xu et coll., 2003 ; Ziccardi et coll., 2002).

4.1 Contribution du tissu adipeux à l'état inflammatoire

L'association entre l'obésité et l'inflammation a été démontrée pour la première fois par Hotamisligil et coll., (1993), qui ont constaté une surexpression de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α dans le tissu adipeux de la souris obèse. Depuis, plusieurs études ont rapporté que l'obésité est associée à des niveaux plasmatiques élevés de TNF- α , d'IL-6, de CRP et d'autres marqueurs de l'inflammation (Fantuzzi, 2005 ; Wellen et Hotamisligil, 2005 ; Tilg et coll., 2006). Chez l'homme, certaines cytokines inflammatoires sont surexprimées dans le tissu adipeux d'individus obèses (Xu et coll., 2003). Le tissu adipeux produit 10-35% de l'IL-6 en circulation, laquelle augmente en fonction de l'adiposité (Mohamed-Ali et coll., 1997 ; Pradhan et coll., 2001). De même, la production de TNF- α par les adipocytes est positivement corrélée avec le degré de l'adiposité (Coppack, 2001). Par ailleurs, la distribution du tissu adipeux semble jouer un rôle clé dans le processus inflammatoire lié à l'obésité. En ce sens, l'étude *The ATTICA Study* a montré que les individus affichant une obésité viscérale avaient des niveaux de CRP (53%), de TNF- α (30%) et d'IL-6 (42%) plus élevés comparativement aux sujets qui avaient une distribution normale de tissu adipeux

(Panagiotakos et coll., 2005). De plus, il a été rapporté que certaines cellules immunitaires comme les macrophages pouvaient s'infiltrer dans le tissu adipeux (principalement viscéral) (Figure. 4), et que leur nombre augmente avec l'obésité (Tilg et Moschen, 2006 ; Weisberg et coll., 2003). Ces macrophages infiltrés seraient responsables de la majeure partie de la production de cytokines inflammatoires dans le tissu adipeux obèse (Weisberg et coll., 2003 ; Xu et coll., 2003). En fait, ils seraient responsables de presque toute l'expression du TNF- α et d'environ 50% de l'IL-6 (Weisberg et coll., 2003)

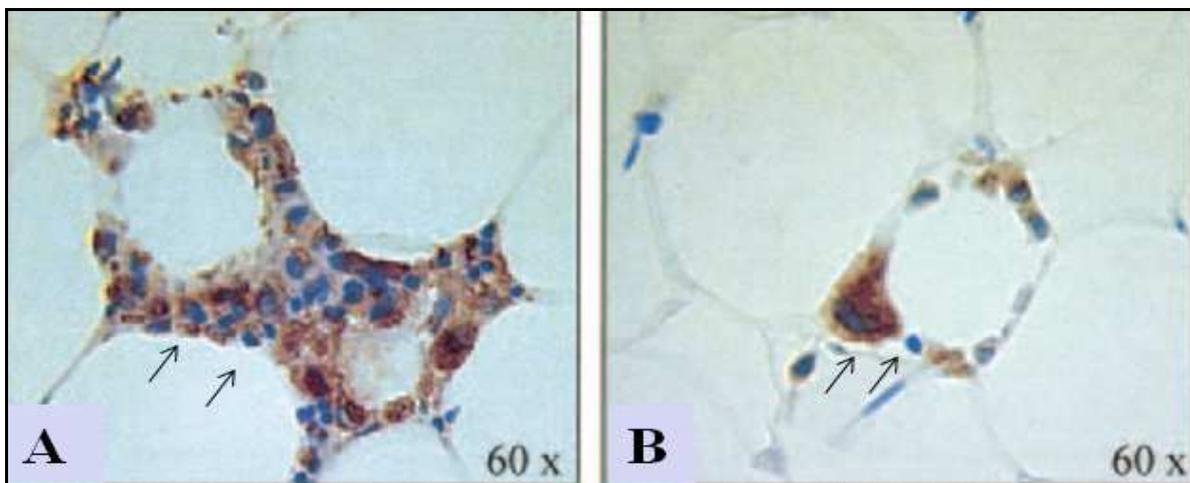


Figure 5 : Aspect typique de l'infiltration macrophagique chez l'obèse: Infiltration plus importante dans le tissu adipeux viscéral (A) que sous-cutané (B). Macrophages marqués par l'anticorps HAM56 (D'après Canello et coll., 2006).

D'autre part, il semble que la surexpression de TNF- α lors de l'obésité joue un rôle crucial dans le développement de la résistance à l'insuline. À ce sujet, Hotamisligil et coll., (1993) ont démontré que, chez des rats obèses, l'injection d'anticorps qui neutralisent le TNF- α circulant entraîne une diminution de la glycémie et de l'insulinémie, suggérant que la neutralisation de TNF- α augmente la sensibilité à l'insuline des animaux obèses. De plus, les souris TNF- $\alpha^{-/-}$ sont en partie protégées contre le développement de la résistance à l'insuline associée à l'obésité (induite par un régime hyperlipidique) (Uysal et coll., 1997). Il semble

que le TNF- α soit capable d'inhiber la voie de signalisation de l'insuline au niveau du muscle et du tissu adipeux. À ce sujet, il a été montré que le TNF- α est en mesure de causer la phosphorylation d'IRS-1 sur la sérine 307 (Rui et coll., 2001). Cette modification d'IRS-1 est associée à une réduction de la phosphorylation sur les résidus tyrosine d'IRS-1, ce qui diminue à son tour son association avec l'IR. En plus d'être associé à la phosphorylation de la sérine 307 d'IRS-1, le TNF- α peut causer également la phosphorylation sur la sérine 632 d'IRS-1, altérant ainsi sa liaison à la PI 3-kinase (Ozes et coll., 2001). Le TNF- α peut aussi diminuer l'expression d'IRS-1 et l'expression des GLUT4 (Hotamisligi et coll., 1996 ; Stephen et coll., 1997). D'autre part, cette cytokine peut activer une pléiade de kinases, dont la JNK, qui jouerait probablement un rôle dans le développement de la résistance à l'insuline (Hirosumi et coll., 2002).

Des études *in-vitro* ont montré que la protéine JNK peut phosphoryler l'IRS-1 sur Ser307, empêchant ainsi son interaction avec le récepteur de l'insuline (Aguirre et coll., 2002 ; 2000). De plus, il a été rapporté qu'une suractivation de JNK dans certains modèles d'animaux obèses est associée à une augmentation de la phosphorylation d'IRS-1 sur Ser307, au niveau du muscle et du tissu adipeux (Hirosumi et coll., 2002). L'invalidation génétique de JNK1, *JNK1*^{-/-}, prévient le développement de la résistance à l'insuline en empêchant la phosphorylation de l'IRS-1 sur Ser307, amenant ainsi un rétablissement de la signalisation insulinique (Hirosumi et coll., 2002). Notons cependant que les souris *JNK1*^{-/-} sont également moins obèses, ce qui peut expliquer en partie l'augmentation de leur signalisation insulinique.

4.2 Inflammation vasculaire et risque athérogène

L'obésité est souvent associée à la présence d'une athérosclérose, et ce dès le plus jeune âge. Des examens post-mortem sur des jeunes et des adultes obèses (15-34 ans) ont

montré que l'étendue des stries lipidiques dans la coronaire droite et dans l'aorte abdominale était associée à l'obésité et à l'épaisseur du tissu adipeux (McGill et coll., 2000 ; 1995).

Dans des conditions physiologiques normales, les cellules endothéliales ne favorisent pas l'adhésion des leucocytes à leur surface. Cependant, la présence de certains facteurs de risque cardiovasculaire tels l'obésité, l'hypertension artérielle, la résistance à l'insuline ou encore la consommation d'une diète athérogénique entraîne l'activation de l'endothélium. Par conséquent, la perméabilité de ce dernier aux lipoprotéines (principalement les LDL-c) ainsi que l'adhésion des leucocytes et des plaquettes à la paroi interne des vaisseaux sanguins, médiées par des molécules d'adhésion (principalement ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine), sont augmentées (figure 4A). De plus, l'endothélium acquiert des propriétés pro-coagulantes et il y a également sécrétion de molécules vaso-actives, de cytokines et de facteurs de croissance. Lorsque la réponse inflammatoire ne parvient plus à neutraliser ou à éliminer ces molécules indésirables, le processus de dysfonction endothéliale se perpétue (Libby, 2006; Ross, 1999).

Lorsque l'inflammation est installée, elle stimule la migration ainsi que la prolifération des cellules musculaires lisses (figure 4B). On parle alors d'une lésion athérosclérotique de niveau intermédiaire. Lorsque cet état perdure, on note un épaississement interne de la paroi intima-média des vaisseaux sanguins. L'état inflammatoire entraîne également une augmentation du nombre de macrophages et de lymphocytes T en provenance de la circulation sanguine. Ainsi, les macrophages présents dans l'espace sous-endothélial jouent un rôle clef dans de nombreuses étapes de l'athérosclérose. Dans un premier temps, un certain nombre d'entre eux se transforment en cellules spumeuses en captant les LDL oxydées ; cette captation se fait par l'intermédiaire de récepteurs «*scavengers* ». Ces cellules chargées de lipides se multiplient et sécrètent des cytokines, des chimiokines et des facteurs de croissance qui maintiennent et même amplifient les signaux pro-inflammatoires. À long terme, ce

phénomène peut éventuellement mener à la nécrose du tissu vasculaire (Libby, 2006; Ross, 1999). Les cycles d'accumulation de cellules mononucléaires, la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses et la formation de tissu fibreux engendrent un élargissement ainsi qu'une restructuration de la lésion. Celle-ci devient alors recouverte d'une chape fibreuse, laquelle recouvre un noyau formé de lipides et de tissus nécrotiques (figure 4C). À ce stade, la lésion est alors qualifiée d'avancée et/ou de compliquée (Ross, 1999).

Au fil du temps, la matrice de collagène interstitiel composant la chape fibreuse de la lésion athérosclérotique se dégrade et s'amincit sous l'action de métalloprotéinases ainsi que de diverses enzymes protéolytiques sécrétées par les macrophages. Finalement, il peut y avoir rupture de la chape fibreuse et formation d'un thrombus, résultant en l'occlusion d'artères de petit calibre (figure 4D). Par conséquent, un infarctus du myocarde ou un accident vasculaire cérébral serait susceptible de survenir (Ross, 1999).

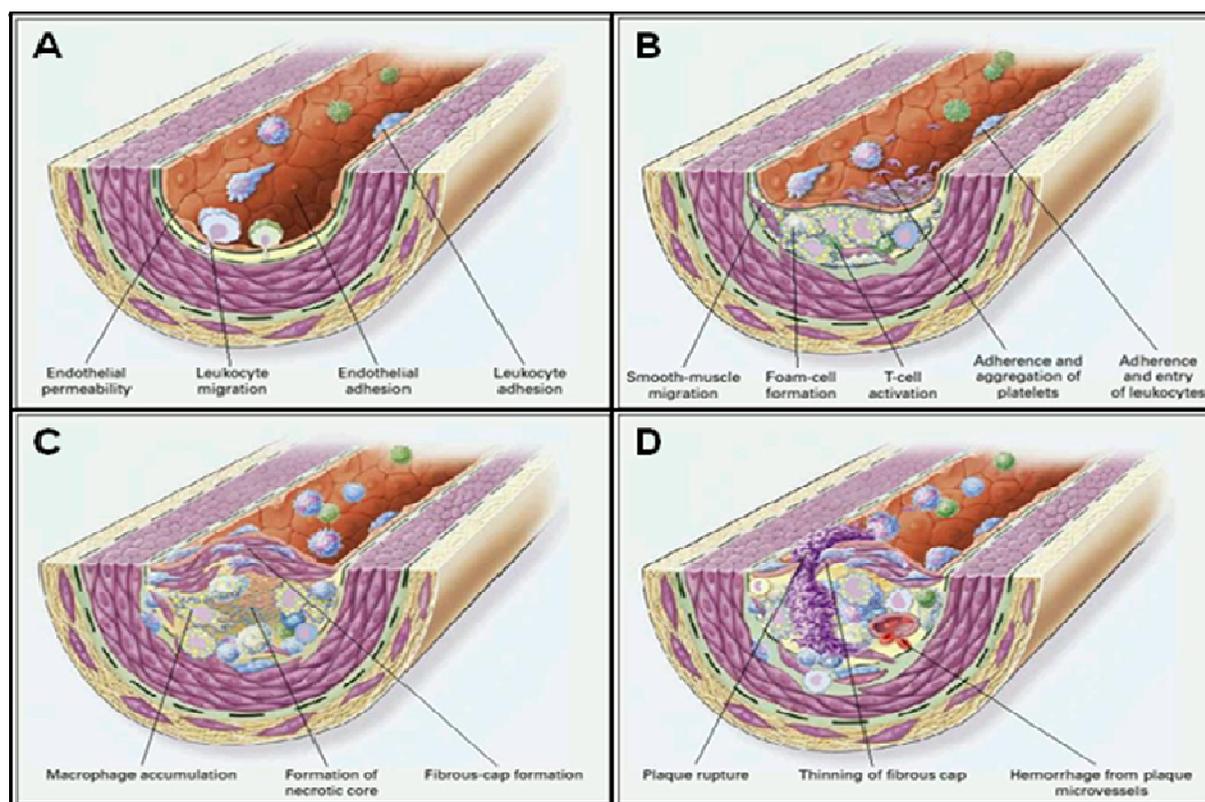


Figure 6. Développement et progression de l'athérosclérose. A : Dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose. B : Formation de la strie lipidique dans l'athérosclérose. C : Formation d'une lésion avancée et compliquée dans l'athérosclérose. D : Plaque fibreuse instable dans l'athérosclérose (ROSS, 1999).

En somme, l'accumulation du tissu adipeux au niveau viscéral semble jouer un rôle important dans le développement des complications cardiométaboliques liées à l'obésité. La présence d'un état inflammatoire et d'un stress oxydatif élevé seraient des éléments clé dans la cascade d'événements menant au développement de l'athérosclérose dans l'obésité. Ainsi, le risque d'avoir un accident vasculaire cérébral et un infarctus de myocarde augmentent avec le degré de l'obésité. Par exemple, l'étude Framingham, qui a suivi des hommes et des femmes pendant 44 ans, a montré que chaque augmentation de l'IMC d'un point augmente le risque de développer un accident ischémique cérébral de 4% et hémorragique de 6% (Wilson et coll., 2002). D'autre part, l'augmentation rapide de l'obésité dans notre société actuelle semble être influencée en grande partie par un mode de vie de plus en plus sédentaire et une

alimentation malsaine. C'est pourquoi nous consacrerons le prochain chapitre à l'étude de l'impact des facteurs environnementaux, tels que l'inactivité physique et les régimes alimentaires de type occidentaux, sur le développement de l'obésité et de ses complications cardiométaboliques.