IV Microvasculature du tissu adipeux :

Comme cela a été décrit dans le chapitre précédent, l'homéostasie du tissu adipeux est fortement impactée lors du développement de l'obésité. La survenue de phénomènes délétères comme l'hypoxie, la fibrose et l'inflammation conduisent rapidement à l'apparition de troubles fonctionnels et métaboliques au sein de ce tissu. Même si l'ordre d'apparition et d'importance de ces événements restent difficiles à établir, il semble évident que l'hypertrophie adipocytaire (et l'hypoxie cellulaire qui en découle) est un élément précurseur dans cette cascade physiopathologique. De ce fait, l'étude de la microvascularisation du tissu adipeux semble essentielle.

Le tissu adipeux est extraordinairement vascularisé. On observe néanmoins des différences suivant le type de dépôts adipeux. En effet, le tissu adipeux viscéral possède une densité capillaire inférieure au tissu adipeux sous-cutané, qui lui-même a une densité capillaire plus faible que le tissu brun, le tissu le plus vascularisé de l'organisme (Villaret *et al.* 2010; Gealekman *et al.* 2011). Du fait de cette forte présence vasculaire, les cellules endothéliales, formant l'épithélium simple des capillaires sanguins représentent la deuxième population cellulaire dans le tissu adipeux après les adipocytes. Elles forment un réseau dense permettant d'entourer chaque adipocyte d'une cavité vasculaire.

1) L'angio-adaptation tissulaire :

S'il existe encore de nombreuses interrogations sur les phénomènes qui guident les cellules endothéliales dans l'espace pour qu'elles puissent s'y agencer et former un tel réseau complexe en trois dimensions, on sait que ce réseau forme une structure dynamique subissant des phénomènes de remodelage constants et importants par l'intermédiaire de sa croissance, de son extension ou sa régression au sein des différentes zones. Ce processus de remodelage des capillaires sanguins est appelé « angio-adaptation » et représente la plasticité du réseau capillaire en réponse à l'environnement tissulaire dans lequel les vaisseaux se situent. Le réseau capillaire en réponse à divers stimuli, qu'ils soient physiologiques ou pathologiques, peut se développer (principalement via le processus d'angiogenèse), être stabilisé ou encore régresser.

De ces trois mécanismes, le processus de croissance capillaire ou angiogenèse est de loin le plus documenté.

1.1) L'angiogenèse :

La formation et la croissance des vaisseaux sanguins sont réalisées grâce à de nombreux processus biologiques incluant la vasculogenèse, l'artériogenèse et l'angiogenèse (Carmeliet & Jain 2000; Cao 2009a). Alors que la vasculogenèse et l'artériogenèse sont essentielles pour la formation directe de structures vasculaires primaires à partir de précurseurs mésenchymateux dans les premiers instants de l'embryogenèse (Jain 2003; Swift & Weinstein 2009), l'angiogenèse est un processus clé de la néovascularisation permettant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'une structure endothéliale préexistante. On distingue trois types de processus d'angiogenèse : l'angiogenèse par bourgeonnement, par intussusception et par recrutement des cellules souches endothéliales circulantes (Korpisalo & Ylä-Herttuala 2010; Fang & Salven 2011) (**Figure 19**).

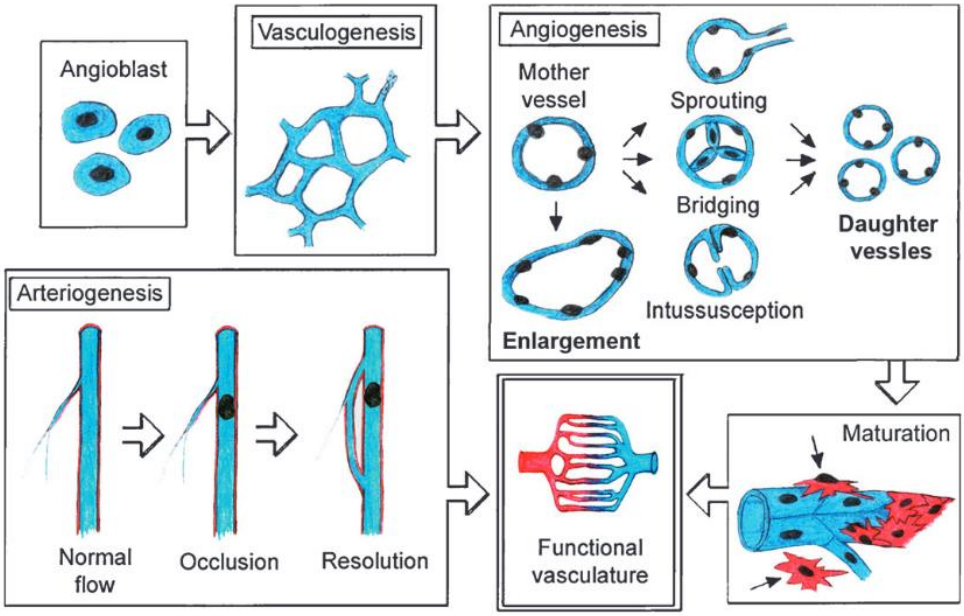

Figure 19: Les mécanismes de croissance vasculaire et les différents processus d'angiogenèse (d'après (Korpisalo & Ylä-Herttuala 2010).

Parmi ces mécanismes, l'angiogenèse par bourgeonnement est celui le mieux décrit. La première phase de ce processus est la perméabilisation vasculaire. Elle correspond à un

relâchement des contacts intercellulaires inter-endothéliaux, de la matrice extracellulaire et des cellules péri-endothéliales que sont les péricytes et les cellules musculaires lisses (Potente *et al.* 2011). Ces modifications permettent de faciliter la migration et la prolifération des cellules endothéliales à travers la matrice et la paroi vasculaire. Les cellules endothéliales vont proliférer et migrer de façon organisée en cône de croissance avant de former ensuite un tube endothélial en s'allongeant et à l'intérieur duquel on retrouve une lumière ou lumen (Carmeliet & Jain 2011).

L'angiogenèse par intussusception diffère de celui par bourgeonnement dans la mesure où celui-ci n'entraine pas la prolifération des cellules endothéliales pour former un nouveau vaisseau. Ce dernier se forme grâce au réarrangement des structures préformées, à savoir par compartimentation d'un vaisseau qui va se scinder en deux en s'invaginant dans la lumière endothéliale (Makanya *et al.* 2009).

L'angiogenèse, quel que soit son type, est un processus peu fréquent chez l'adulte. En effet, les cellules du réseau vasculaire sont dans un état quiescent et la croissance de nouveaux vaisseaux ne s'observe que dans certaines situations physiologiques comme par exemple, dans le muscle lors d'une activité physique soutenue (Olfert & Birot 2011; Potente *et al.* 2011), dans la muqueuse utérine au cours du cycle menstruel chez la femme ou lors de processus de réparation tissulaire.

1.2) Stabilisation et régression :

Même si la communauté scientifique porte un intérêt moindre aux phénomènes de stabilisation et de régression vasculaires comparativement à l'angiogenèse, ces deux processus physiologiques jouent un rôle fondamental dans le maintien des propriétés fonctionnelles du réseau capillaire. La stabilisation du réseau vasculaire fait intervenir les cellules péri-endothéliales comme les péricytes ou les cellules musculaires lisses (Bergers & Song 2005). Leur rôle consiste à stabiliser les vaisseaux naissants en inhibant la prolifération et la migration des cellules endothéliales tout en stimulant la synthèse de matrice extracellulaire autour de celles-ci. Elles jouent en plus un rôle de protection en préservant la structure endothéliale de la rupture ou de la régression. La stabilisation vasculaire est un mécanisme primordial lors du processus d'angiogenèse où la croissance des vaisseaux est concomitante avec le recrutement des péricytes et des cellules musculaires lisses remodelant et stabilisant les nouveaux capillaires sanguins afin d'éviter une angiogenèse anarchique (Gerhardt 2008; Carmeliet & Jain 2011). En

l'absence de péricytes et de cellules musculaires lisses, la rupture des interactions entre ces cellules péri-endothéliales, la matrice extracellulaire et la cellule endothéliale induit l'apoptose de cette dernière. C'est cette disparition de contact cellule-matrice qui sera à l'origine du phénomène de régression capillaire.

1.3) La balance angio-adaptative :

L'angio-adaptation de la microcirculation d'un tissu en faveur d'une angiogenèse, d'une stabilisation ou d'une régression du réseau capillaire existant est très finement régulée par une variété importante de molécules pouvant intervenir à toutes les étapes de l'angio-adaptation. Le fait que, chez l'adulte, la vascularisation de la plupart des tissus soit sous une forme quiescente et stabilisée suggèrent l'existence de régulateurs négatifs qui empêchent la croissance des vaisseaux sanguins. A l'appui de ce concept, de nombreux inhibiteurs endogènes de l'angiogenèse ont été identifiés que ce soit dans les tissus sains ou pathologiques (O'Reilly *et al.* 1994, 1997; Cao 2001). Leurs actions vont essentiellement conduire à l'apoptose des cellules endothéliales, l'inhibition de la prolifération, la migration des cellules endothéliales et la formation de tubes endothéliaux via notamment la rigidification de la matrice extracellulaire. Parmi ces inhibiteurs on peut citer notamment l'angiostatine, la thrombospondine-1/2 (TSP-1/2) et l'endostatine. L'initiation d'un phénomène pro-angiogénique requiert alors un puissant stimulus capable de dépasser le signal de ces régulateurs négatifs pour faire pencher la balance angio-adaptative en faveur d'une croissance vasculaire (Cao 2004). En effet, il est retrouvé dans les tissus présentant des phénomènes de néovascularisation des niveaux d'expression importants de régulateurs positifs de l'angiogenèse (Cao 2009b). Ces régulateurs positifs vont agir sur l'augmentation de la perméabilité membranaire (Ve-cadhérine), la dégradation de la matrice extracellulaire (MMPs, héparinases), le recrutement dynamique des cellules péri-endothéliales (intégrine αvβ3, angiopoiétine 1/2), et bien évidement sur la prolifération et la migration des cellules endothéliales (VEGF, PDGF-B. HGF, récepteur Tie-1).

Parmi l'ensemble des voies régulant la migration et la prolifération des cellules endothéliales, l'interaction entre les signalisations du VEGF et Notch va jouer un rôle primordial. Le VEGF et Notch forment deux gradients de concentration qui vont guider la formation et la migration des cônes de croissance vasculaire pour élaborer un réseau vasculaire optimal (Cao 2009b; Sawamiphak *et al.* 2010; Benedito *et al.* 2012) (**Figure 20**).

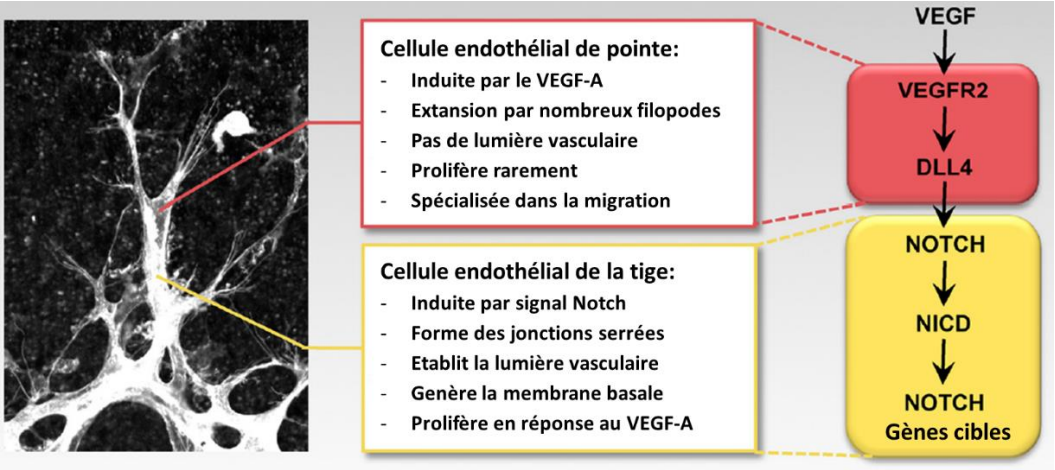

Figure 20: Régulation de la migration et de la prolifération des cellules endothéliales par le signal VEGF-A/Notch (Oellerich & Potente 2012).

Toutes les molécules impliquées dans la régulation de l'angio-adaptation ont été classées en deux grandes catégories de facteurs en fonction de leur rôle dans la régulation positive ou négative de l'angiogenèse : les facteurs pro-angiogénique et anti-angiogénique (ou angiostatique) (Olfert & Birot 2011) (**figure 21**).

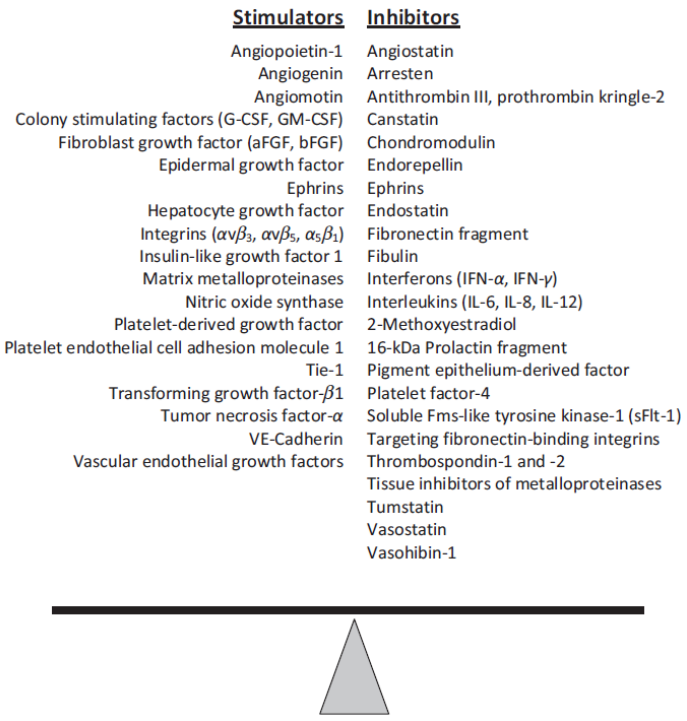

Figure 21: Balance angio-adaptative entre les facteurs pro-angiogénique et anti-angiogénique (Olfert & Birot 2011).

L'angio-adaptation tissulaire apparait donc comme un acte balancé et très finement régulé, dans un combat permanent entre les deux familles de facteurs pro- et anti-angiogéniques. Ainsi, toute augmentation du ratio en faveur du signal pro-angiogénique fera pencher la balance angio-adaptative en faveur du processus d'angiogenèse. À l'inverse, une diminution de ce ratio sera le reflet d'une prédominance du signal angiostatique en faveur d'une régression capillaire. Enfin l'équilibre entre ces deux signaux et la balance angio-adaptative se traduira au sein du réseau vasculaire par un phénomène de stabilisation (**Figure 22**). La liste de ces facteurs intervenant dans la régulation de l'angiogenèse ne cesse de s'agrandir et de se complexifier.

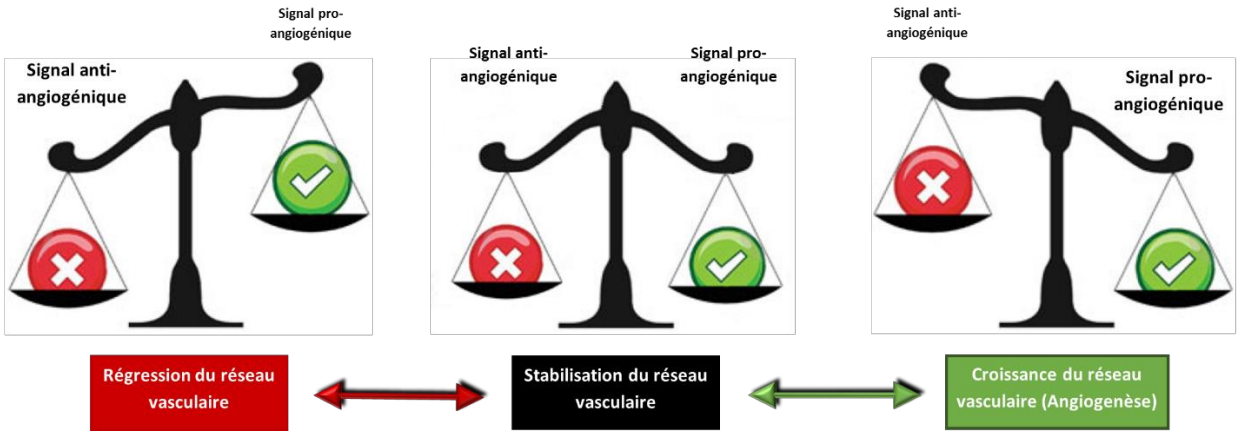

Figure 22: Balance angio-adaptative dans les procédés de développement, de stabilisation et de régression du réseau vasculaire.

La maintenance d'une balance angio-adaptative appropriée chez l'adulte semble donc être essentielle au bon fonctionnement des tissus et une dérégulation de celle-ci en faveur de l'angiogenèse ou de la régression vasculaire peut avoir des conséquences néfastes sur la santé de l'individu.

2) Interactions entre les adipocytes et les cellules vasculaires :

2.1) La fonction vasculaire dans les tissus adipeux blanc et brun :

Comme pour l'ensemble des tissus de l'organisme, la croissance, l'expansion et la régénération du tissu adipeux sont très dépendants de la présence des vaisseaux sanguins pour fournir aux adipocytes les nutriments et l'oxygène dont ils ont besoin et l'élimination des

déchets cellulaires. Même si le tissu adipeux blanc n'est pas aussi vascularisé que le brun, chaque adipocyte blanc est néanmoins toujours situé à proximité d'au moins un capillaire, lui conférant ainsi un apport sanguin suffisant pour assurer ses fonctions (Silha *et al.* 2005). Il n'est donc pas surprenant que le tissu adipeux brun, métaboliquement plus actif, contienne un nombre de capillaires sanguins par adipocyte significativement plus élevé que le blanc afin de subvenir à des besoins en oxygène et nutriments plus importants. Le développement du tissu adipeux et celui de sa microvascularisation sont étroitement liés. En effet, durant le processus d'adipogénèse, la régulation des vaisseaux sanguins peut potentiellement augmenter ou réduire la prolifération et la migration des préadipocytes (Lemoine *et al.* 2012). L'angiogenèse est un processus crucial pour moduler l'adiposité ainsi que les fonctions adipocytaires (Christiaens & Lijnen 2010). Une corrélation positive a été mise en évidence entre la densité vasculaire adipeuse, la masse corporelle et l'IMC (Cao 2007; Lijnen 2008).

Il a été démontré que les adipocytes blancs avaient la capacité de se transformer et d'acquérir un phénotype ressemblant à celui de l'adipocyte brun (*Browning*) au cours d'une exposition chronique au froid chez le rongeur (Xue *et al.* 2009). Cette transition phénotypique, donnant naissance à un tissu adipeux intermédiaire dit « beige », est accompagné d'une réponse angiogénique accrue afin d'augmenter la densité vasculaire au sein de ce tissu. Ce phénomène de browning, est également sensible à d'autres stimuli comme l'exercice physique et sera évoqué plus en détail dans la cinquième partie de cette revue. À contrario, le changement de phénotype des adipocytes bruns en blancs induit lors de l'obésité est étroitement lié à une raréfaction capillaire au sein du tissu adipeux brun (Shimizu *et al.* 2014).

2.2) Effets des cellules vasculaires sur les adipocytes :

Avec l'oxygène et des nutriments, les vaisseaux sanguins transportent jusqu'au adipocytes des facteurs de croissance et des cytokines qui vont jouer un rôle important dans la régulation de la prolifération des adipocytes et de leur fonction cellulaire (Cao 2007). En effet, les vaisseaux et la fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux servent de grand réservoir pour les cellules souches mésenchymateuses qui peuvent se différencier en préadipocytes et adipocytes. Ils contiennent également des cellules inflammatoires comme les monocytes et les neutrophiles qui vont être nécessaires au maintien de l'homéostasie du tissu adipeux. Les cellules endothéliales, en plus de former une barrière fonctionnelle entre le compartiment sanguin et interstitiel, sont impliquées dans des signalisations paracrine et endocrine (Descamps

& Emanueli 2012). Elles sont capables de réguler des processus cellulaires comme la réponse immunitaire ou la croissance (Sumpio *et al.* 2002) mais également de sécréter des facteurs induisant la différenciation des préadipocytes (Hutley *et al.* 2001). Cet effet adipogénique pourrait être dû à la production de facteurs de croissance comme l'IGF-1 et FGF par les cellules endothéliales (Hutley *et al.* 2004). Les cellules péri-endothéliales, et plus particulièrement les péricytes sont, en plus de leur action sur l'angiogenèse, en mesure de se différencier en préadipocyte et en adipocyte (Farrington-Rock *et al.* 2004; Tang *et al.* 2008).

2.3) Effets des adipocytes sur les cellules vasculaires :

L'interaction entre les adipocytes et les cellules vasculaires n'est pas de nature unidirectionnelle. Bien au contraire, une interaction réciproque entre ces différents types cellulaires a été démontrée à travers la sécrétion par les adipocytes (et les préadipocytes) de nombreuses molécules qui agiront comme des facteurs pro- et anti-angiogéniques (Cao 2010). À titre d'exemple, les adipokines telles que le HGF, l'angiopoiétine-2, le TNFα, la TSP-1, le *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) et le *bone morphogenetic protein-4* (BMP-4) sont capables de stimuler ou inhiber la prolifération et la migration des cellules endothéliales (Crandall *et al.* 2000a, b; Kong *et al.* 2014; Tang *et al.* 2016). L'influence des adipokines sur la régulation de la vascularisation du tissu adipeux sera évoquée plus en détail au cours de ce chapitre. La biocommunication intercellulaire entre les adipocytes, les cellules endothéliales et péri-vasculaires va conduire à une boucle de régulation paracrine importante, modulant les phénomènes d'angiogenèse et d'adipogénèse à l'intérieur du tissu adipeux. Une partie de ces interactions est illustrée en **figure 23**.

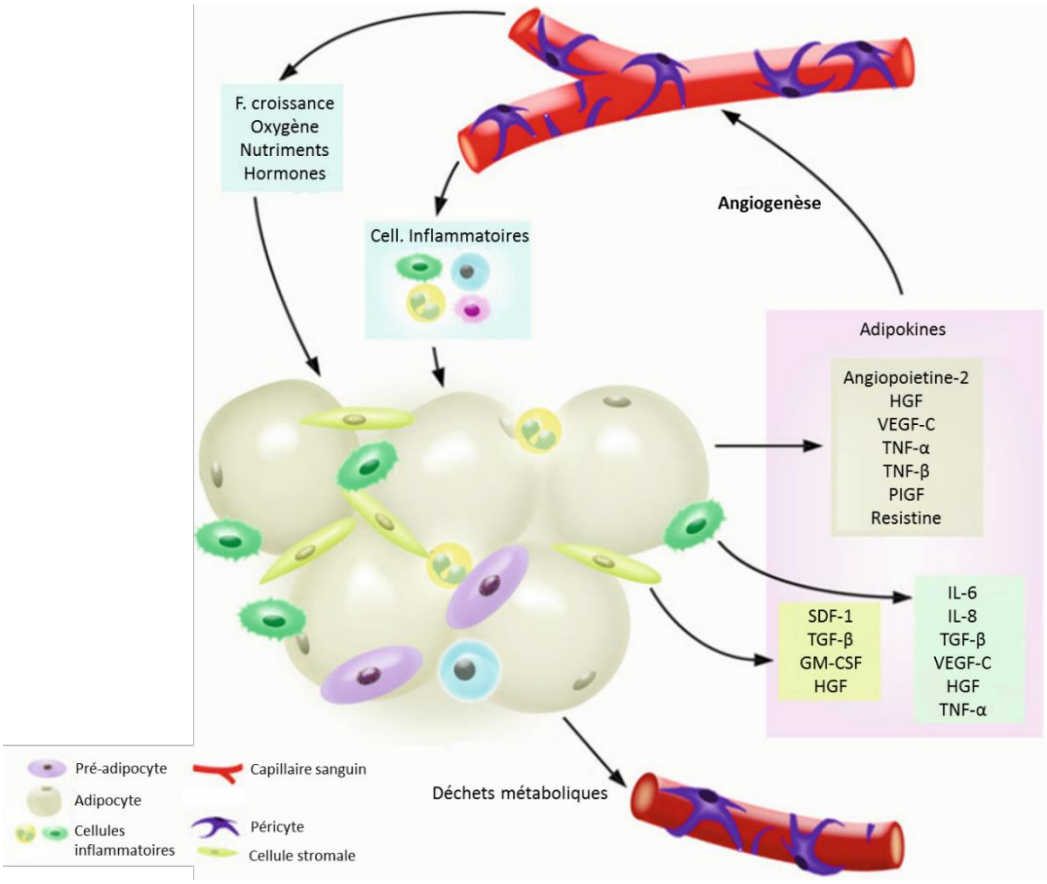

Figure 23: Interrelations entre les cellules endothéliales et les adipocytes dans les mécanismes régulateurs des processus d'angiogenèse et d'adipogénèse (d'après (Cao 2007, 2013).

3) Régulation de l'angio-adaptation du tissu adipeux :

Au cours de la vie adulte, le tissu adipeux est confronté en permanence à des périodes d'expansion et de rétrécissement. Cette grande plasticité du tissu adipeux est intimement dépendante du remodelage constant du réseau sanguin adipeux (Hausman and Richardson 2004). Ce fait, avec les nombreuses interactions entre les adipocytes et les vaisseaux sanguins, suggère qu'une altération au sein de l'un de ces deux systèmes cellulaires peut activement être responsable de la modulation des fonctions de l'autre. Au cours des prochains paragraphes nous allons voir comment est régulée cette balance angio-adaptative au sein du tissu adipeux. Nous évoquerons notamment le rôle des adipokines et des adipocytokines. Celles-ci, sécrétées dans le microenvironnement des cellules endothéliales, sont capables d'intervenir dans cette régulation en condition physiologique, mais également à l'obésité où les sécrétions endocrines des adipocytes et des cellules immunitaires sont dérégulées.

3.1) Les facteurs pro-angiogéniques:

3.1.1) Le Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A):

Le VEGF est l'inducteur majeur de la croissance vasculaire qu'elle soit physiologique ou même pathologique. Il s'agit d'une protéine homodimérique de 46kDa appartenant à la famille des VEGFs. Celle-ci est composé de 7 peptides étroitement apparentés : VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F et PIGF (*Placenta-like growth factor*). Il est recensé aujourd'hui 4 isoformes du VEGF-A qui sont générées par un épissage alternatif à partir d'un gène unique en fonction de sa localisation cellulaire. Le VEGF-A peut interagir avec deux récepteurs spécifiques à activité tyrosine kinase qui sont le *VEGF receptor-1* (VEGFR-1) et le VEGFR-2, retrouvés essentiellement sur la membrane plasmique des cellules endothéliales. L'activation du VEGFR-1 va stimuler la migration des cellules endothéliales alors que celle du VEGFR-2 induit leur prolifération et leur survie. L'action du VEGF-A sur l'angiogenèse est primordiale, d'autant plus que celui-ci est capable également d'intervenir dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire et de la dégradation de la matrice extracellulaire (Hicklin & Ellis 2005; Gerhardt 2008). Le VEGF est sécrété sous l'influence de nombreux facteurs moléculaires et mécaniques mais l'hypoxie est le principal inducteur de sa production (Rey & Semenza 2010).

Dans le tissu adipeux, il a été démontré que les adipocytes blancs et bruns étaient capables de produire du VEGF-A et que celui-ci était primordial au maintien d'une structure vasculaire fonctionnelle et suffisante pour assurer l'homéostasie du tissu (Xue *et al.* 2009). En accord avec ces données, l'inhibition des VEGFRs réduit significativement la densité vasculaire dans le tissu adipeux de souris (Kamba *et al.* 2006). Le niveau d'expression du VEGF-A dans le tissu adipeux a été montré comme étant diminué (Halberg *et al.* 2009; Pasarica *et al.* 2009a; Miranda *et al.* 2010), augmenté (He *et al.* 2011) ou inchangé (Voros *et al.* 2005a) à l'obésité. Malgré ces observations contradictoires, le processus angiogénique au sein d'un tissu est généralement associé à un phénomène de croissance de ce dernier. L'inhibition de l'angiogenèse et du VEGF-A, comme en cancérologie, a semblé donc être une stratégie thérapeutique intéressante pour lutter contre l'obésité et l'expansion délétère du tissu adipeux. Mais les résultats obtenus sont également sujets à controverse. Certains ont démontré qu'une délétion/ inhibition sélective du VEGF-A ou d'un blocage de son récepteur VEGFR-2 dans le tissu adipeux d'animaux obèses pouvait entrainer une réduction de la vascularisation adipeuse et de la prise de masse grasse (Fukumura *et al.* 2003; Tam *et al.* 2009; Honek *et al.* 2014). Mais d'autres études, utilisant les mêmes méthodes d'inhibition du VEGF-A et de son signal, ont

montré que cette stratégie était associée à une réduction de la densité capillaire couplée à une non-réduction de la masse de tissu adipeux. Cela avait pour conséquence une forte augmentation de l'hypoxie et de l'inflammation tissulaire, ainsi que des désordres métaboliques associés à l'obésité (Lijnen & Scroyen 2013; Sung *et al.* 2013). Au vu de ces derniers résultats, certaines équipes ont travaillé sur un modèle de souris obèses transgéniques surexprimant le VEGF-A au niveau adipeux. Et il a été mis en évidence chez ces souris une augmentation de la densité capillaire au sein du tissu adipeux blanc, non associée à une élévation de masse adipeuse mais à une réduction de l'hypoxie et de l'inflammation tissulaire, et même à une augmentation de l'activité thermogénique dans ces tissus (Elias *et al.* 2012; Sung *et al.* 2013). La surexpression du VEGF-A dans le tissu adipeux brun de souris obèses induit de la même façon une augmentation de la densité capillaire, permettant ainsi de réduire le processus de *whitening* de ce tissu chez les souris HFD (Shimizu *et al.* 2014). Alors que les effets de l'angiogenèse induits par le VEGF-A dans le tissu adipeux de l'obèse restent sujets à débat, il en va de même pour la détermination de l'origine des stimuli qui déclenchent sa production.

Si, dans les autres tissus, l'hypoxie et HIF-1α semblent être les précurseurs majeurs de la stimulation du VEGF-A, ce principe reste incertain dans le tissu adipeux. En effet, si certaines études menées *in vitro* ont démontré que l'hypoxie pouvait induire la production de VEGF-A (Trayhurn *et al.* 2008), d'autres n'ont observé aucune correspondance entre l'hypoxie du tissu adipeux et l'expression de VEGF-A dans celui-ci (Halberg *et al.* 2009; Corvera & Gealekman 2014).

Il reste donc un certain nombre d'inconnu autour du VEGF-A dans le tissu adipeux, notamment autour de son activation et sa façon de l'appréhender dans une éventuelle stratégie thérapeutique de lutte contre l'obésité. Mais l'ensemble des recherches menées sur cette molécule s'accordent à dire que celle-ci est positivement corrélée à la densité capillaire adipeuse et qu'il s'agit d'un facteur pro-angiogénique fondamental dans le maintien et la croissance du réseau vasculaire.

3.1.2) Autres facteurs pro-angiogéniques :

Si le VEGF-A apparait comme le chef de file des molécules pro-angiogéniques, il en existe d'autres au sein du tissu adipeux, comme le HGF (*Hepatocyte growth factor*), un autre facteur mitogénique des cellules endothéliales qui est abondamment produit par les adipocytes et les préadipocytes. Son niveau d'expression est 10 fois supérieur à celui du VEGF-A dans le

tissu adipeux humain (Fain *et al.* 2004). La capacité du HGF à stimuler la croissance vasculaire a été notamment démontrée *in vitro* avec des co-cultures d'adipocytes et de cellules endothéliales où la mise sous silence du gène codant HGF induisait une réduction de 40% de la croissance endothéliale (Saiki *et al.* 2006). Le rôle de HGF à l'obésité est plus clairement établi que celui du VEGF. Le niveau de HGF circulant est fortement augmenté à l'obésité (Rehman *et al.* 2003; Bell *et al.* 2006). Alors que son inhibition réduit l'angiogenèse dans les dépôts adipeux, sa surexpression au niveau préadipocytaire augmente le processus d'angiogenèse et la formation de tissu adipeux (Bell *et al.* 2008).

Des études récentes suggèrent le rôle potentiel du VEGF-B dans le processus angiogénique adipeux. Les effets de celui-ci seraient plus indirects. Le VEGF-B viendrait se fixer spécifiquement sur le VEGFR-1, permettant d'augmenter l'activation de la voie de signalisation VEGF-A/VEGFR-2 et conduisant ainsi une augmentation de l'angiogenèse du tissu adipeux et une réduction de l'ensemble des troubles métaboliques associés à l'obésité comme l'inflammation et l'insulino-résistance (Rafii & Carmeliet 2016; Robciuc *et al.* 2016).

Le *Fibroblast growth factor-1* (FGF-1) et le FGF-2 sont des facteurs pro-angiogéniques (Kyrou *et al.* 2016) qui, au même titre que le VEGF-A, peuvent induire la différenciation des cellules souches adipeuses en cellules endothéliales (Khan *et al.* 2016) et dont les inhibitions vont avoir un puissant effet angiostatique (Li *et al.* 2016b). L'angiopoiétine 1 et 2 (Ang-1 et 2) vont également jouer un rôle pro-angiogénique, notamment en favorisant la propagation des péricytes autour des vaisseaux néoformés. L'Ang-1 stabilise les interactions entre les cellules péri-endothéliales et endothéliales, alors qu'à l'inverse l'Ang-2 détruit ces interactions. La sécrétion d'Ang-2, si elle se fait seule, peut isoler la cellule endothéliale des péricytes, induisant son apoptose (Xue *et al.* 2008).

3.2) Les facteurs angiostatiques :

De l'autre côté de la balance angio-adaptative, il existe une multitude d'inhibiteurs endogènes angiogéniques qui vont venir contrebalancer les effets des facteurs pro-angiogéniques.

3.2.1) La thrombospondine-1 (TSP-1):

La TSP-1 est une glycoprotéine matricielle appartenant à la famille des thrombospondines. Celle-ci est composée de 5 membres (TSP-1, TSP-2, TSP-3, TSP-4, TSP-

5) présentant une grande analogie structurelle (**Figure 24**) qui va jouer un rôle primordial sur les propriétés de ces molécules. Cela fait déjà plus de 25 ans qu'ont été observé les effets angiostatique de la TSP-1 sur les cellules endothéliales (Good *et al.* 1990). Des études montreront plus tard qu'une partie de l'activité de la TSP-1 repose sur la capacité de sa partie N-terminal à inhiber la migration des cellules endothéliales en réorganisant le cytosquelette d'actine et en désassemblant les adhésions focales retrouvées entre la cellule et la matrice extracellulaire (Goicoechea *et al.* 2000, 2002), mais également entre les cellules elles-mêmes (Liu *et al.* 2009).

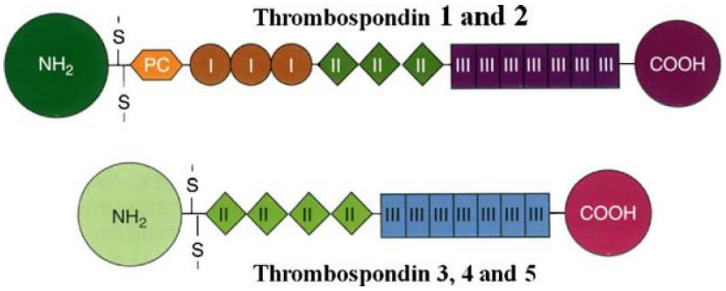

Figure 24: Représentation schématique de la structure moléculaire des chaînes de la famille des thrombospondines. Les TSP-1 et 2 sont des trimères alors que les TSP-3, 4 et 5 sont des pentamères (Bornstein 2009).

La TSP-1 a également la particularité de pouvoir interagir et fixer directement ou indirectement certains facteurs de croissance ou protéases. La partie N-terminale peut notamment interagir avec les molécules pro-angiogéniques VEGF-A, MMP2 et 9, empêchant ainsi l'activation de celles-ci (Chen *et al.* 2000; Bornstein 2001; Bornstein & Sage 2002; Lawler 2002; Greenaway *et al.* 2007). La structure peptidique répétée de type 1 (I) peut interagir avec le TGFβ1 et le récepteur endothélial CD36, induisant leur activation (Ribeiro *et al.* 1999; Jiménez *et al.* 2000). La partie C-terminal peut quant à elle fixer et activer le récepteur endothélial CD47 (Isenberg *et al.* 2006).

C'est l'ensemble de ces interactions qui vont conférer à la TSP-1 ses propriétés de molécule anti-angiogénique. En particulier la fixation de la TSP-1 au CD36 est capable de moduler la voie de signalisation du VEGF/VEGFR-2 au profit de l'activation de caspases afin d'induire non pas une réponse angiogénique mais l'apoptose de la cellule endothéliale (Silverstein & Febbraio 2007; Mirochnik *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2009; Chu *et al.* 2013). L'activation du TGFβ1 par la TSP-1 va induire les processus pro-fibrotiques de cette molécule.

La synthèse de matrice extracellulaire et le recrutement des cellules musculaires lisses qui en résultent vont aboutir à une stabilisation des cellules endothéliales et du réseau vasculaire (Ribeiro *et al.* 1999; Sweetwyne & Murphy-Ullrich 2012). Enfin, il a été montré récemment que l'interaction CD47-TSP-1 active une voie de signalisation au sein de la cellule endothéliale conduisant à l'arrêt de cycle cellulaire et son entrée en sénescence (Gao *et al.* 2016). Les effets anti-angiogéniques de la TSP-1 sont tels que des études sur des traitements anti-tumoraux basés sur l'utilisation d'analogue de la TSP-1 ont été réalisées (Haviv *et al.* 2005; Hoekstra *et al.* 2006; Greenaway *et al.* 2009; Sahora *et al.* 2012).

Il a été observé chez la souris ou chez l'Homme obèse une forte augmentation de l'expression de la TSP-1 dans les adipocytes et les vaisseaux sanguins (Stenina 2003; Voros *et al.* 2005a; Varma *et al.* 2008; Kong *et al.* 2013). Les causes de cette surexpression restent assez méconnues même s'il a été montré que *Forkhead Fox O1* (FoxO1), l'hyperglycémie et la leptine étaient capables de stimuler la production de TSP-1 (Raman *et al.* 2011; Chavez *et al.* 2012; Roudier *et al.* 2013a; Sahu *et al.* 2016). Des études ont également observé que la TSP-1 pouvait être sécrétée par les macrophages, notamment lorsque ceux-ci sous soumis à un stress hypoxique (Ortiz-Masià *et al.* 2012; Finlin *et al.* 2013). L'utilisation de souris HFD présentant une déplétion de TSP-1 n'a pas permis de mettre en évidence une modification de la densité vasculaire dans les tissus adipeux. En revanche la réduction de l'expression de TSP-1 chez ces souris HFD était associée à une diminution de la masse grasse, de l'hypertrophie des adipocytes, de l'inflammation du tissu adipeux et de la résistance à l'insuline au niveau systémique (Inoue *et al.* 2013; Kong *et al.* 2013). Les résultats de ces deux études montrent qu'au-delà de son rôle anti-angiogénique, la TSP-1 pourrait également disposer de propriétés pro-inflammatoires en jouant positivement sur le recrutement des macrophages et l'expression du TNFα. D'autant plus que l'association entre la TSP-1 et l'inflammation a déjà été observée chez le patient obèse (Varma *et al.* 2008). Pris dans leur globalité, l'ensemble des données s'intéressant à la TSP-1 démontrent à quel point cette molécule joue un rôle central dans les dysfonctions du tissu adipeux associées à l'obésité.

3.2.2) *Forkhead Box O1* (FoxO1) :

FoxO1 appartient à la famille des facteurs de transcription FoxOs, caractérisée par la présence d'un domaine de liaison à l'ADN d'une centaine d'acides aminés appelée domaine *Forkhead*. Cette famille comprend quatre membres chez les mammifères : FoxO1, FoxO3,

FoxO4 et FoxO6 (Wang *et al.* 2014b). Hormis FoxO6, exprimé seulement dans le système nerveux central (Furuyama *et al.* 2000), les facteurs FoxOs sont exprimés dans un large panel de types cellulaires et d'organes où ils contrôlent l'expression de nombreux gènes impliqués dans une grande diversité de processus biologique comme la croissance, le métabolisme, la réponse au stress, la différenciation et le cycle cellulaire ou encore l'apoptose (Salih & Brunet 2008; Eijkelenboom & Burgering 2013). Les facteurs FoxOs vont être régulés par la voie de signalisation de l'insuline PI3K-Akt. La protéine Akt est en mesure de phosphoryler des résidus thréonine et sérine de FoxOs provoquant leur exclusion nucléaire et donc leur séquestration cytoplasmique où ils seront dégradés (Puig & Mattila 2010; Tzivion *et al.* 2011).

Les cellules endothéliales expriment majoritairement les facteurs FoxO1 et FoxO3α, qui vont jouer un rôle très significatif sur la régulation du phénotype et de l'activité métabolique de la cellule. En effet, parmi les gènes cibles de FoxO1 et 3α dans la cellule endothéliale, on trouve des inhibiteurs du cycle cellulaire, des gènes apoptotiques et des gènes de résistance au stress oxydant (Fu and Tindall, 2008; H.-Y. Lee *et al*., 2008; Paik *et al*., 2007; Salih and Brunet, 2008). Une étude transcriptomique a permis de mettre en évidence le rôle de régulateur négatif de FoxO1 sur le gène MYC, un puissant activateur de la glycolyse, du métabolisme mitochondrial et de la croissance endothéliale (Dang 2013; Wilhelm *et al.* 2016). Les protéines FoxOs exercent également un rôle pro-inflammatoire en augmentant la production de TNFα dans la cellule endothéliale et la production de chimiokines et cytokines dans les macrophages (Lee *et al.* 2008c; Su *et al.* 2009; Kawano *et al.* 2012). L'activité pro-apoptotique et inductrice de sénescence endothéliale de FoxO1 et 3α confère à ces facteurs un rôle anti-angiogénique. Un rôle largement renforcé par le fait que FoxO1 est également en mesure de promouvoir l'expression du facteur angiostatique TSP-1 et la signalisation profibrotique du TGFβ (Roudier *et al.* 2013a, b). La transfection de FoxO1 dans les cellules endothéliales, grâce à un adénovirus, conduit à la réduction du messager de VEGF-A (Shikatani *et al.* 2012). En stimulant l'expression de la TSP-1 et en inhibant celle du VEGF-A, FoxO1 joue un rôle majeur dans l'inhibition de l'angiogenèse. La **figure 25** récapitule les mécanismes d'actions et les effets de FoxOs.

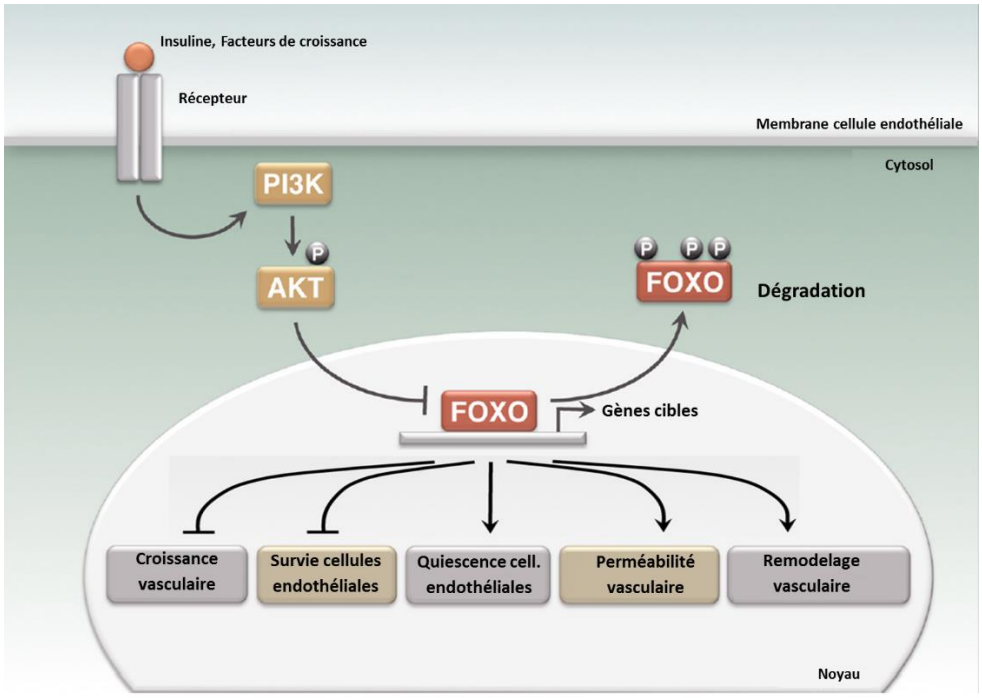

Figure 25: Régulation et effets des facteurs de transcriptions FoxOs sur le phénotype endothélial (Oellerich & Potente 2012).

La surexpression de FoxO1 dans l'endothélium de la souris adulte a clairement démontré le rôle anti-angiogénique de ces facteurs. Il est retrouvé, chez la souris, une sévère réduction de l'angiogenèse accompagnée d'un réseau vasculaire atrophié avec des vaisseaux sanguins amincis. Alors que, à l'inverse, la délétion de FoxO1 et 3 induit une intense prolifération endothéliale couplée à une réduction de l'apoptose (Paik *et al.* 2007; Wilhelm *et al.* 2016). Néanmoins, FoxOs jouent un rôle essentiel pour l'homéostasie de la cellule endothéliale car chez ces mêmes souris, l'augmentation de l'activité proliférative des cellules endothéliales était accompagnée de désordres métaboliques endothéliaux et de la formation d'un réseau vasculaire anarchique pouvant aboutir à la formation d'angiome.

Chez la souris obèse, l'expression de FoxO1 dans la cellule endothéliale semble augmentée, ce qui aboutit au sein du muscle squelettique à une diminution de la densité capillaire et de sa sensibilité à l'insuline (Nwadozi *et al.* 2016). La délétion partielle et spécifique de FoxO1/3/4 au niveau endothélial permet d'améliorer la densité capillaire et la sensibilité à l'insuline dans le muscle des souris HFD. L'augmentation de l'expression nucléaire de FoxO1 et la réduction de sa phosphorylation ont été également observées dans l'endothélium au niveau cardiaque chez la souris obèse (Battiprolu *et al.* 2012). La phosphorylation et la dégradation de FoxOs sont dépendantes de Akt, dont l'activité a été montrée comme étant

inversement proportionnelle au niveau protéique de FoxO1 dans les cellules endothéliales des capillaires sanguins (Milkiewicz *et al.* 2011). Sachant que l'activation d'Akt est elle-même dépendante de la voie de signalisation de l'insuline, il est possible que l'augmentation de l'expression endothéliale de FoxO1 soit une des conséquences de la survenue de résistance à l'insuline (Qi *et al.* 2015). Toutefois, plusieurs études ont souligné que FoxO1 serait une des causes de la perte de la sensibilité cellulaire à l'insuline de par l'activation prolongée d'Akt (Ni *et al.* 2007; Battiprolu *et al.* 2012). L'augmentation des facteurs FoxOs pourrait donc précéder le développement de l'insulino-résistance. Cette hypothèse tend à être confirmée chez l'animal obèse où l'haploinsuffisance de FoxO1 protège la souris de la survenue de l'insulino-résistance, en augmentant notamment l'activation de PPARγ (Kim *et al.* 2009a). Dans le tissu adipeux, l'expression d'une forme mutante et inactive de FoxO1 au niveau adipocytaire améliore l'activité métabolique et endocrine du tissu, ainsi que la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline de l'organisme entier (Nakae *et al.* 2008). Même si ces études montrent l'importance de FoxO1 dans le phénotype associé à l'obésité au niveau cardiaque, musculaire et systémique, la fonction de FoxO1 dans la cellule endothéliale et dans l'angiogenèse du tissu adipeux, notamment au cours du développement de l'obésité, reste inexplorée.

3.2.3) Autres facteurs anti-angiogéniques :

En plus de la TSP-1 et de FoxO1, il existe bien d'autres facteurs endogènes qui vont jouer un rôle non négligeable dans la régulation négative de l'angiogenèse adipeuse. C'est le cas, par exemple de l'endostatine, du *pigment epithelium-derived factor* (PEDF) et de l'angiostatine. Ces molécules vont être en mesure d'inhiber la prolifération et la migration des cellules endothéliales ou d'induire leur apoptose (Silha *et al.* 2005; Radziwon-Balicka *et al.* 2013). L'expression de ces molécules semble augmentée à l'obésité et il a été démontré que l'utilisation de plasmides recombinants visant à stimuler la production d'endostatine et d'angiostatine chez la souris obèse permettait de réduire l'angiogenèse et la prise de masse adipeuse (Rupnick *et al.* 2002; Cao 2010)

3.4) Hypoxie :

L'expansion rapide du tissu adipeux ne permet pas l'apparition simultanée d'un réseau vasculaire adéquat assurant une oxygénation optimale aux cellules adipeuses (Pasarica *et al.* 2009a). Il en résulte une hypoxie tissulaire et une augmentation de la stabilisation de HIF-1α.

Dans la plupart des tissus de l'organisme, l'hypoxie et l'activation de HIF-1 représentent les plus importants des stimuli pro-angiogéniques existants, en agissant notamment sur l'expression du VEGF-A (Rey & Semenza 2010). Mais le tissu adipeux semble réagir différemment, avec une expression accrue de HIF-1 qui échoue à stimuler le VEGF-A et la croissance vasculaire (Halberg *et al.* 2009; Corvera & Gealekman 2014). Parmi la dizaine d'études menées chez l'animal, où l'expression de HIF-1 a été modulée de façon génétique dans le tissu adipeux, une seule a mis en évidence que la délétion de HIF-1 était associée à une diminution du VEGF-A et de l'angiogenèse. Et encore, ce résultat n'a pas été retrouvé dans le tissu adipeux blanc mais uniquement dans le tissu brun (Zhang *et al.* 2010b, c). *In vitro*, la culture de cellules de la fraction stroma-vasculaire adipeuse, en condition hypoxique, induit l'expression du VEGF, stimule la croissance des cellules endothéliales et la formation de tube vasculaire (Rehman *et al.* 2004; Maumus *et al.* 2008; Amos *et al.* 2011). L'hypoxie est également capable d'induire l'apparition d'un profil sécrétoire pro-angiogénique au sein des macrophages du tissu adipeux, en stimulant notamment leur expression du VEGF-A et du *platelet-derived growth factor* (PDGF) (Ye *et al.* 2007; Pang *et al.* 2008; Bourlier *et al.* 2012). Malgré le fait qu'HIF-1 semble être un stimulus pro-angiogénique pour les cellules non-adipocytaires, l'effet profibrotique de HIF-1 dans les adipocytes (Halberg *et al.* 2009; Lee *et al.* 2011) tend à faire pencher l'hypoxie comme un élément favorisant l'angiostatisme du tissu adipeux.

3.3) Effets des adipokines :

De nombreuses adipokines et adipocytokines sont aussi capables d'interagir pour réguler directement ou indirectement l'angiogenèse du tissu adipeux. Sécrétées par les adipocytes ou les cellules de la fraction stroma-vasculaire, elles vont pouvoir exercer leur fonction angiogénique de manière paracrine ou autocrine. Ce niveau de régulation supplémentaire de ces facteurs adipeux inclue la redondance de stimulateurs et d'inhibiteurs de l'angiogenèse.

3.3.1) Leptine :

La leptine est la première adipokine dont le rôle sur l'angiogenèse a été étudié *in vivo*. Elle permet de stimuler directement la migration, la prolifération des cellules endothéliales et la formation de nouveaux vaisseaux (Bouloumié *et al.* 1998; Cao *et al.* 2001; Artwohl *et al.*

2002). Cette activité pro-angiogénique a été retrouvée en condition pathologique comme dans l'ischémie des membres inférieurs ou certains cancers (Amjadi *et al.* 2016) En plus d'agir directement, la leptine est également capable d'induire l'expression de facteurs pro-angiogéniques tel que le VEGF-A, le VEGFR-1,le FGF-2, la MMP-2 et 9 (Cao *et al.* 2001; Stallmeyer *et al.* 2001; Tahergorabi & Khazaei 2015; Delle Monache *et al.* 2016). Néanmoins, il est retrouvé chez les souris déficientes en leptine ou en récepteurs à la leptine une vascularisation importante du tissu adipeux, ce qui suggère que la leptine n'est pas indispensable au processus angiogénique du tissu adipeux (Cao *et al.* 2001; Cao 2007). La leptine semble également importante dans la régulation de l'angio-adaptation du tissu adipeux lors d'une perte de poids. En effet la leptine, en synergie avec le VEGF-A, va stimuler l'angiogenèse pendant la prise de masse grasse. Mais inversement, elle favorise la régression des vaisseaux et du tissu adipeux, en absence de VEGF-A, pendant une perte de poids (Cohen *et al.* 2001).

3.3.2) Adiponectine :

L'adiponectine semble être un important médiateur de la réponse angiostatique. En effet, elle peut inhiber la migration et la prolifération des cellules endothéliales et péri-endothéliales, ainsi que la formation de tubes endothéliaux (Bråkenhielm *et al.* 2004; Motoshima *et al.* 2004; Mahadev *et al.* 2008; Man *et al.* 2010). Ceci pourrait s'expliquer par la régulation négative dose-dépendante de l'adiponectine sur le VEGF-A, le PDGF et le FGF-2 (Arita *et al.* 2002; Bråkenhielm *et al.* 2004; Wang *et al.* 2005; Bora *et al.* 2007). L'effet inhibiteur maximal survenant à des doses correspondant à de faibles niveaux physiopathologiques d'adiponectine circulante. L'adiponectine a de plus, la faculté de moduler l'activité biologique de nombreux autres facteurs circulants. Une analyse protéomique faite sur des échantillons de sérum humain, sains ou diabétiques de type 2, a déterminé l'ensemble de ces interactions. Elle a mis en évidence la fixation de l'adiponectine avec la TSP-1, sans pour autant expliquer qu'elles pouvaient être les conséquences de cette liaison sur la fonctionnalité de la TSP-1(Wang *et al.* 2006). Il est attribué également à l'adiponectine le rôle plus controversé de facteur pro-apoptotique. Si certaines études ont corrélé le niveau d'adiponectine avec l'activation de caspases, induisant la mort des cellules endothéliales (Bråkenhielm *et al.* 2004; Man *et al.* 2010), d'autres ont au contraire attribués un rôle protecteur de l'adiponectine sur la survie de ces cellules soumis à un stress glucidique ou oxydant (Sun & Chen 2010).

Les effets directs de l'adiponectine sur la cellule endothéliale seraient liés à l'activation de la voie intracellulaire AMP-K (Kobayashi *et al.* 2004). L'activation de la signalisation AMP-K conduit dans la plupart des types cellulaires, cellule endothéliale comprise, au processus d'apoptose (Motoshima *et al.* 2006; Guo *et al.* 2007). Mais elle semble aussi impliquée dans d'autres mécanismes cellulaires suivant le contexte physiologique de la cellule endothéliale. En condition de stress métabolique, hypoxique ou oxydant, la voie AMP-K pourrait interagir avec celle d'Akt pour induire la survie cellulaire, des défenses antioxydantes et même l'angiogenèse en stimulant la migration et la formation de tube endothéliaux (Nagata *et al.* 2003; Ouchi *et al.* 2004; Fisslthaler & Fleming 2009). La bivalence des effets de l'adiponectine sur la régulation de l'angiogenèse semblerait donc dépendre de l'état de stress physiologique de la cellule endothéliale, qui conditionnerait la structure oligomérique de la protéine (Kobayashi *et al.* 2004). Cette hypothèse semble être confirmée par l'utilisation de modèle ischémique. Alors que la délétion de l'adiponectine est associée à une réduction de l'angiogenèse et de la production de VEGF, la surexpression de l'adiponectine protège de la survenue de complication de sein de l'organe ischémié (Shibata *et al.* 2004; Shimano *et al.* 2010; Shen *et al.* 2013). En condition physiologique, la réduction ou l'augmentation du niveau d'adiponectine n'a en revanche aucune répercussion sur le réseau vasculaire du tissu adipeux (Maeda *et al.* 2002; Yamauchi *et al.* 2003). Chez la souris obèse, si une surexpression de l'adiponectine a montré des effets bénéfiques sur l'hypertrophie, l'inflammation et l'insulino-sensibilité du tissu adipeux (Otabe *et al.* 2007), les effets sur la vascularisation et les cellules endothéliales de ce tissu restent méconnus.

3.4) Effets des adipocytokines:

3.4.1) *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α):

Le TNF-α est la cytokine pro-inflammatoire majeure de l'inflammation et des troubles de la signalisation à l'insuline dans le tissu adipeux à l'obésité (Donato *et al.* 2012; Liu *et al.* 2016b). Elle est produite majoritairement par les macrophages résidents et dans une moindre proportion par les adipocytes. Le TNF-α est également capable à la fois de stimuler ou d'inhiber l'angiogenèse en coopérant positivement ou négativement avec le VEGF-A et le FGF-2 sur la migration des cellules endothéliales (Guo 2000). Il joue également un rôle clé sur la différenciation des cellules souches adipeuses et mésenchymateuses en cellules endothéliales (Kwon *et al.* 2013; Hutton *et al.* 2014; Zubkova *et al.* 2016). Si le TNF-α semble réduire

l'expression du VEGFR-2 (Patterson *et al.* 1996), il augmente également l'expression de facteurs angiogéniques incluant le VEGF-A, FGF-2, Ang-2, récepteur Tie2 et la leptine (Gerhardt *et al.* 2001; Chen *et al.* 2004). D'après ces études, l'orientation d'un impact pro- ou anti-angiogénique TNF-α semble être dépendant de son propre niveau d'expression et de celui des autres régulateurs angiogéniques. La réduction de la production de TNF-α fonctionnel est associée à une amélioration de la sensibilité à l'insuline, mais ne semble pas impacter significativement la masse de tissu adipeux ainsi que sa vascularisation (Uysal *et al.* 1997; Serino *et al.* 2007).

3.4.2) Interleukine-6 (IL-6) :

L'IL-6 est une autre cytokine pro-inflammatoire clé dans le développement des dysfonctions de la réponse cellulaire à l'insuline et de la résistance systémique à l'insuline (Liu *et al.* 2016b). Sécrétée majoritairement par les macrophages résidents dans le tissu adipeux, elle exercerait également un rôle pro-angiogénique en stimulant, *in vivo*, la migration et la prolifération endothéliale ainsi que la formation de structures tubulaires. Ces effets impliqueraient, au moins partiellement, la stimulation de l'expression du VEGF-A par l'IL-6 (Cohen *et al.* 1996; Hernández-Rodríguez *et al.* 2003; Yang *et al.* 2016). L'administration répétée d'IL-6 en intrapéritonéale, permet chez la souris une augmentation de la densité vasculaire du tissu adipeux rétropéritonéal (Rega *et al.* 2007).

3.4.3) Transforming growth factor-β (TGFβ):

Le TGFβ est exprimé dans les adipocytes et les cellules stromales du tissu adipeux et sa production est significativement augmentée dans ce tissu chez le rongeur et l'humain obèses (Alessi *et al.* 2000). Elle régule plusieurs aspects de la fonction cellulaire comme l'adhésion, la migration, la prolifération, la différenciation et l'apoptose (Santibañez *et al.* 2011). Mais le TGFβ a plus particulièrement été étudié pour son rôle dans la fibrose tissulaire. En effet, il semble impliquée dans de nombreuses pathologies humaines caractérisées par un excès de fibrose dans des organes comme le foie, le rein, le cœur, les poumons et le tissu adipeux (Prud'homme 2007; Sun *et al.* 2013b). Mais le TGFβ pourrait être également impliqué dans des processus plus physiologiques, comme dans le maintien de l'intégrité vasculaire, notamment dans les capillaires sanguins (Walshe *et al.* 2009). Il a également été démontré le rôle potentiel du TGFβ dans la régulation de l'activation des cellules endothéliales. En effet, le TGFβ peut à

la fois stimuler et inhiber l'angiogenèse en fonction de son propre niveau d'expression mais surtout celui de ces deux récepteurs Alk-1 et 5, retrouvés à la surface de l'endothélium. Alors que l'activation de l'Alk-1 conduit à stimuler la prolifération et la migration des cellules endothéliales, celle d'Alk-5 provoque l'inhibition de ces processus (Pepper 1997; Lebrin *et al.* 2005). De façon intéressante, le blocage de la voie de signalisation d'Alt-5 chez la souris, rend ces dernières résistantes au régime HFD, sans pour autant altérer leur prise alimentaire. Il en résulte également l'apparition d'un processus du *browning* dans le tissu adipeux blanc avec des adipocytes présentant une augmentation de la biogénèse et de la respiration mitochondriale (Tan *et al.* 2011; Yadav *et al.* 2011; Yadav & Rane 2012).

3.4.4) Autres adipocytokines :

Il existe d'autres molécules pouvant intervenir plus ou moins directement sur la régulation de l'angio-adaptation adipeux.

La résistine, une cytokine pro-inflammatoire est sécrétée par les adipocytes et les macrophages résidents et circulants. Son expression est augmentée dans le tissu adipeux chez l'Homme obèse (Savage *et al.* 2001) et son inhibition chez la souris obèse et diabétique permet de restaurer sa sensibilité à l'insuline (Steppan *et al.* 2001). En plus de son action pro-inflammatoire, la résistine stimule l'angiogenèse de manière dose- et temps-dépendant (Calabro *et al.* 2004; Mu *et al.* 2006; Robertson *et al.* 2009). Cette stimulation pourrait être la résultante d'une expression génique et protéique accrue du VEGF-A (Pang *et al.* 2013; Su *et al.* 2015).

L'angiogénine, sécrétée par les adipocytes et les cellules stromales adipeuses, a une expression augmentée chez les souris obèses (Kurki *et al.* 2012). Elle est capable de se fixer aux protéines matricielles afin d'en induire la protéolyse, permettant ainsi la migration des cellules endothéliales et péri-endothéliales à travers la matrice extracellulaire (Sheng & Xu 2016).

L'*angiopoietin-Like Protein 4* (Angplt-4) s'est vu attribuer, suite à des études d'angiogenèse *in vivo* et *in vitro,* le statut de facteur anti-angiogénique (Cazes *et al.* 2006; Yang *et al.* 2008; Chomel *et al.* 2009; Kim *et al.* 2014), capable notamment d'inhiber l'interaction entre le VEGF-A et son récepteur VEGFR-2 (Galaup *et al.* 2012). Toutefois, il a été montré en situation de stress inflammatoire que l'Angplt-4 stimule les processus angiogéniques tels que

la prolifération et la migration des cellules endothéliales ainsi que la formation de tube vasculaire (Le Jan *et al.* 2003; Gealekman *et al.* 2008; Chong *et al.* 2014).

L'apeline, connue pour son implication dans le contrôle de l'appétit et la régulation de la contractilité cardiaque, aurait également des aptitudes de facteur pro-angiogénique, capable de stimuler la migration et la prolifération des cellules endothéliales, ainsi que la formation de celles-ci en structure tubulaire *in vivo* (Kidoya & Takakura 2012). La production d'apeline est augmentée à l'obésité, via l'action de l'insuline et du TNF-α (Castan-Laurell *et al.* 2008) et la mise sous silence de son gène via un ARN interférent réduit la réponse angiogénique suite à une transplantation de tissu adipeux chez la souris (Kunduzova *et al.* 2008). L'administration, périphérique et non centrale, d'apeline est accompagnée d'une réduction de la masse grasse, sans changement de la prise alimentaire de la souris (Higuchi *et al.* 2007).

D'autres cytokines adipeuses comme la visfatine et la chemerine sont capables, respectivement, d'induire la production de facteurs pro-angiogéniques (VEGF-A, Il-6…) et de stimuler *in vitro* la prolifération et la migration endothéliale (Kim *et al.* 2009b; Bozaoglu *et al.* 2010; Kaur *et al.* 2010; Park *et al.* 2011). Inversement, le PAI-1 et omentin semblent exercer un rôle anti-angiogénique en inhibant respectivement l'interaction cellule-matrice, le FGF-2 et le VEGF-A (Stefansson *et al.* 2001; Czekay *et al.* 2003; Scroyen *et al.* 2009; Tan *et al.* 2010; Xie *et al.* 2011).

4) Balance angio-adaptative en conditions physiologiques :

L'ensemble des molécules précédemment citées peuvent donc interagir sur l'équilibre de la balance angio-adaptative du tissu adipeux. Si cette liste n'est pas exhaustive, elle montre à quel point ce processus angio-adaptatif est finement régulée et complexe. Pour rajouter à cette complexité, il a été montré des différences dans le profil de sécrétion de ces molécules entre les différents dépôts de tissu adipeux. En effet, la production de leptine, adiponectine, TNF-α, et Angptl-4 est plus importante dans les adipocytes du tissu adipeux sous-cutané (Gealekman *et al.* 2011), alors que dans le tissu adipeux viscéral est retrouvée une plus forte production de VEGF-A, TSP-1, FGF, IL-6, vistafine et PAI-1 (Gabrielsson *et al.* 2000; Fain *et al.* 2004). En condition physiologique, les variations d'expression de ces facteurs vont assurer la plasticité du réseau vasculaire et du tissu adipeux (**Figure 26**). Dans le tissu adipeux brun, l'activité endocrine bien moindre des adipocytes bruns implique très certainement une régulation de la

balance angio-adaptative essentiellement sous le contrôle des facteurs endogènes tels que le VEGF-A et la TSP-1.

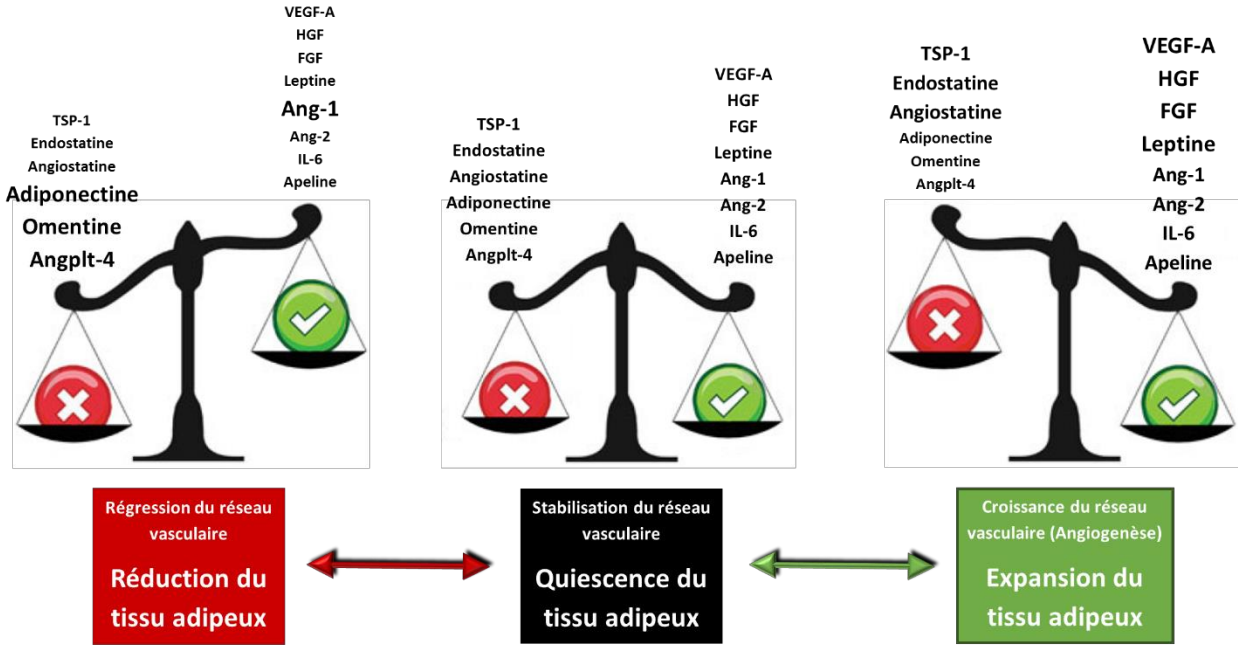

Figure 26: Régulation de la balance angio-adaptative pendant les phases de réduction et d'expansion de la masse adipeuse. Pendant l'expansion du tissu adipeux, les changements de production des différentes adipokines et facteurs angiogéniques vont induire une balance angio-adaptative en faveur du signal pro-angiogénique. La croissance vasculaire qui en résulte va pouvoir accompagner le processus d'adipogénèse.

5) Balance angio-adaptative lors de l'obésité :

Au cours de l'obésité, la balance angio-adaptative en faveur de l'angiogenèse qui permettait l'expansion initiale du tissu adipeux semble altérée. En effet, même si l'expression de facteurs pro-angiogéniques est augmentée (Leptine, IL-6, VEGF-A (controversé), HGF, FGF…), l'endothélium du tissu adipeux semble réduire sa réponse angiogénique face aux facteurs de croissance et autres stimulateurs. Les raisons de cette détérioration de la réponse angio-adaptative en situation d'expansion extrême du tissu adipeux restent à être mieux définies. Elle pourrait avoir pour origine l'augmentation des facteurs FoxOs dans la cellule endothéliale (Wu *et al.* 2016), ainsi que la prépondérance accrue des adipocytes hypertrophiques. Ces derniers vont présenter de profondes altérations dans leur profil sécrétoire, avec une forte production de régulateurs angiogéniques négatifs tels que la TSP-1, l'endostatine et l'angiostatine (Silha *et al.* 2005; Varma *et al.* 2008). L'ensemble de ces facteurs

angiostatiques vont déséquilibrer la balance angio-adaptative et induire une angiogenèse insuffisante au sein du tissu adipeux. Il en découle une raréfaction capillaire et une inadéquation entre la perfusion du tissu adipeux et les besoins métaboliques des adipocytes hypertrophiques, aboutissant à l'hypoxie tissulaire (Pasarica *et al.* 2009a). Ce changement dans le microenvironnement du tissu adipeux, accompagné d'une inflammation de faible intensité, contribue à renforcer le dérèglement de l'expression des adipokines/ adipocytokines (Hosogai *et al.* 2007). Tout cela conduit à un cercle vicieux local et à l'augmentation des dysfonctions endothéliales et microcirculatoires du tissu adipeux (Barton *et al.* 2012). *In fine*, les niveaux d'adipokines circulants altérés conduiront à la survenue des pathologies associées à l'obésité (**Figure 27**).

L'insuffisance de la réponse angiogénique du tissu adipeux semble être au cœur du phénotype pathologique survenant à l'obésité. Cela laisse supposer que le développement d'outils permettant de restreindre cette « résistance » angiogénique pourrait constituer une approche thérapeutique intéressante pour lutter contre l'obésité.

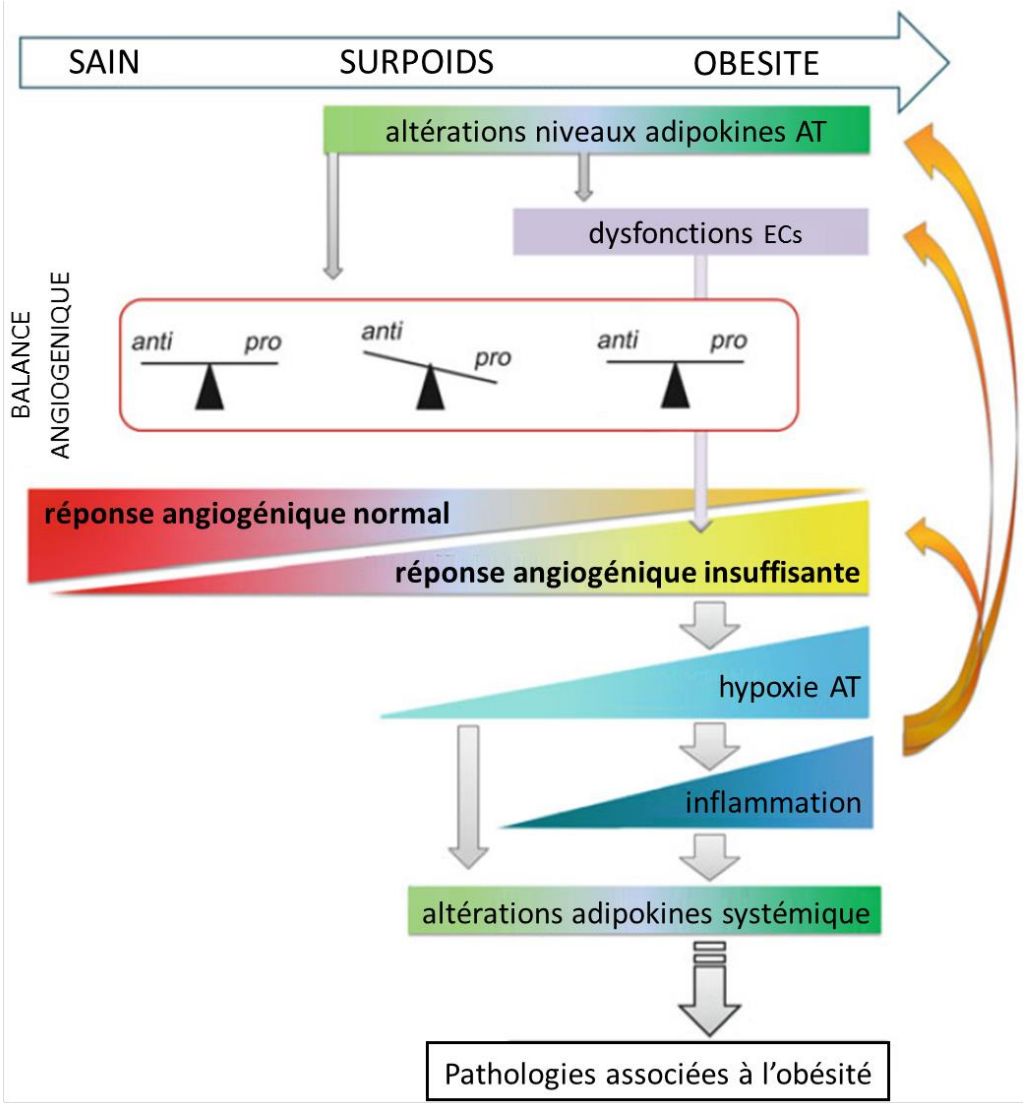

Figure 27: Réponse angiogénique du tissu adipeux au cours du développement de l'obésité. Pendant l'expansion physiologique du tissu, le signal pro-angiogénique prédomine sur celui anti-angiogénique afin de stimuler l'angiogenèse permettant une perfusion adaptée du tissu adipeux en croissance. L'expansion supra-physiologique du tissu adipeux à l'obésité provoque une altération de la sécrétion d'adipokines telles que la TSP-1 et une réponse angiogénique localement insuffisante. Cette « résistance » angiogénique est à la base des dysfonctions du tissu adipeux conduisant aux troubles métaboliques associés à l'obésité (Cao 2013).