

CLA et syndrome lipoatrophique chez la souris

Philippe BESNARD¹
Hélène POIRIER¹
Isabelle NIOT¹
Michèle GUERRE-MILLO²

¹ Physiologie de la nutrition, Ecole nationale supérieure de biologie, appliquée à la nutrition et à l'alimentation (ENSBANA), UMR 5170 CNRS/INRA/UB, 1, Esplanade Erasme, 21000 Dijon, France
<pbsnard@u-bourgogne.fr>

² U465 Inserm, Centre de recherche des Cordeliers Université Pierre et Marie Curie F-75005 Paris

CLA est un acronyme anglo-saxon (*conjugated linoleic acid*) désignant un groupe d'isomères géométriques (cis/trans, trans/cis et trans/trans) et positionnels de l'acide linoléique. Ces acides gras atypiques sont produits au cours de l'hydrogénation progressive de l'acide linoléique (C18:2, n-6, Δ c9,c12). Ce phénomène a lieu au niveau du tractus digestif des ovins et des bovins sous l'influence de la flore ruménale. Cette biohydrogénation produit très majoritairement du c9,t11-CLA appelé, de ce fait, acide ruménique. Le c9,t11-CLA est également synthétisé chez différents mammifères, dont l'Homme, par la Δ 9 désaturation de l'acide trans-vaccénique apporté par l'alimentation [1]. Les autres isomères biosynthétisés chez le ruminant le sont de façon très modeste. C'est le cas notamment du t10,c12-CLA que l'on retrouve sous la forme de traces dans les aliments les plus riches en CLA, c'est-à-dire les produits laitiers ou la viande ovine et bovine. Les 200 à 400 mg de CLA consommés quotidiennement en Europe apportent donc essentiellement de l'acide ruménique. Des mélanges isomériques de CLA, destinés à être vendus comme compléments alimentaires, sont en revanche issus de la synthèse industrielle. Contrairement aux aliments, cette source de CLA apporte du c9,t11-CLA et du t10,c12-CLA en quantités équivalentes.

L'intérêt récent pour les CLA a été suscité par une série de publications montrant qu'ils peuvent exercer des effets potentiellement bénéfiques pour la santé. En effet, une action antitumorale a été trouvée chez le rat et la souris [2]. De même, l'addition de CLA dans l'alimentation semble réduire les facteurs de risques cardiovasculaires, notamment chez le lapin [3]. Mais l'attrait majeur de ces composés est essen-

Abstract: *Conjugated linoleic acid (CLA) refers to a class of positional and geometric dienoic isomers of linoleic acid. Chronic dietary supplementation with a commercial mixture containing c9,t11-CLA and t10,c12-CLA in equimolar quantity leads to a drop in fat mass in various species. The t10,c12-CLA isomer is responsible for this anti-obesity effect. The reduction of fat mass is especially dramatic in the mouse, in which it is associated with a severe hyperinsulinemia, an insulin resistance and a massive liver steatosis. The origin of these adverse side effects and the putative chronology of events leading to CLA-mediated lipoatrophic syndrome are presented and discussed in this review.*

Key words: *conjugated linoleic acid, lipoatrophy, insulin resistance, β -cell hyperplasia, liver steatosis*

tiellement dû à leur action anti-obésité rapportée par de nombreuses études réalisées dans différentes espèces (porc, rat, souris, hamster, poulet) [4-6]. Toutefois, des effets secondaires indésirables ont été récemment documentés chez des souris dont le régime alimentaire avait été supplémenté avec un mélange isomérique commercial de CLA. Dans cette espèce particulièrement sensible aux CLA [7], la chute de la masse grasse est en effet associée à une insulino-résistance, une hyper-insulinémie sévère et une stéatose hépatique massive (figure 1) [5, 8, 9]. Nous avons démontré que ce syndrome complexe est strictement dépendant du t10,c12-CLA [9]. Il faut cependant souligner que l'impact physiologique des CLA peut différer selon l'espèce considérée. Par exemple, contrairement à ce qui est observé chez la souris, l'insulino-résistance qui caractérise les rats Zucker obèses est réduite consécutivement à un régime enrichi en CLA [10]. L'origine de ces résultats discordants n'est encore pas établie.

Chez l'Homme, parmi les 14 études d'intervention actuellement publiées [11, 12], seules 3 rapportent une chute de la masse adipeuse [12]. Cet effet, de faible ampleur, ne modifie pas la masse corporelle. Il est notable que la quasi-totalité de ces travaux a été réalisée avec des mélanges isomériques commerciaux, pourtant vendus pour leurs vertus amaigrissantes. Cependant, les seuls travaux rapportant l'effet du t10,c12-CLA purifié mettent en exergue des effets potentiellement délétères. En effet, les sujets supplémentés présentent une chute de leur insulino-sensibilité et une augmentation de marqueurs sanguins du stress oxydatif par rapport au groupe placebo [13, 14].

En dépit d'une recherche soutenue, les mécanismes par lesquels les CLA peuvent affecter la composition corporelle sont loin d'être parfaitement élucidés. La souris constituant un modèle « hyper-répondant », l'analyse fine de l'impact physiologique d'une supplémentation en CLA dans cette espèce nous a permis d'établir l'origine et la chronologie des événements aboutissant au syndrome lipoatrophique.

Syndrome lipoatrophique induit par les CLA

Les CLA réduisent la masse grasse

Une souris adulte soumise à un régime alimentaire contenant 1 % d'un mélange isomérique commercial de CLA perd plus de 70 % de ses réserves lipidiques en 4 semaines (figure 1A) [8, 9]. Cette chute intervient rapidement puisqu'elle devient significative dès le 5^e jour du traitement [8]. Ce phénomène est strictement dépendant du t10,c12-CLA [9]. Les mécanismes responsables de cet effet sont partiellement établis. Tout d'abord, les CLA limitent la mise en réserve des lipides dans l'adipocyte en favorisant la perte des nutriments énergétiques dans les excréta [15] et en augmentant la dépense énergétique [16]. En accord avec cette observation, on constate une forte induction de l'expression du gène codant pour la protéine découplante UCP2 dans différents tissus, ce qui pourrait favoriser la dissipation d'une partie de l'énergie ingérée sous forme de chaleur [17]. Ensuite, l'expression d'une série de gènes impliqués dans l'hydrolyse des lipoprotéines riches en triglycérides, le captage et le transport adipocytaire des acides gras ainsi que dans la lipogénèse est fortement

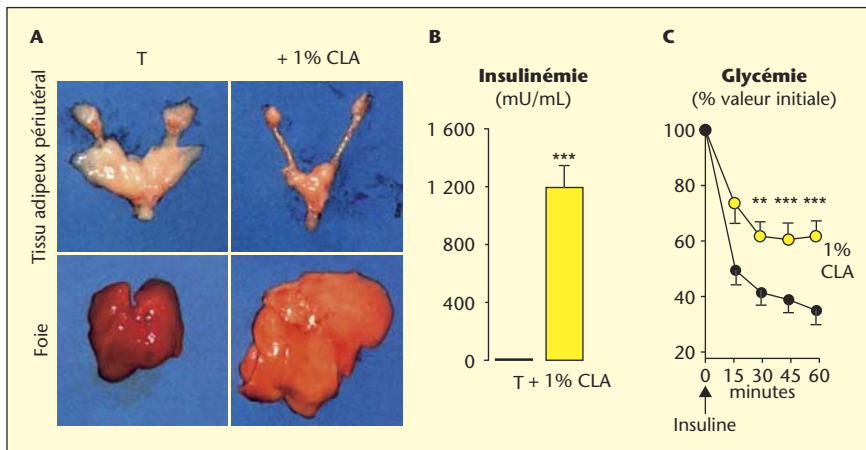


Figure 1. Syndrome lipotrophique induit par les CLA chez la souris. Les animaux ont reçu pendant 28 jours un régime reconstitué dans lequel 1 % des lipides constitutifs a été substitué par un mélange isomérique commercial de CLA. Ce changement provoque (A) une fonte massive des réserves adipeuses associée à une stéatose hépatique sévère, (B) un hyperinsulinisme et (C) une insulino-résistance.

réduite en réponse aux CLA. Enfin, les CLA provoquent l'apoptose des adipocytes [8]. Il a été suggéré que cette régulation complexe soit contrôlée par un effecteur cellulaire polyvalent tel que le *tumor necrosis factor* (TNF α) dont la teneur est fortement induite par les CLA. En effet, le TNF α augmente l'expression d'UCP2 [18], inhibe la lipoprotéine lipase (LPL) responsable de l'hydrolyse des chylomicrons et des lipoprotéines de faible densité (VLDL) [19] et favorise l'apoptose des adipocytes [20]. D'autres cytokines pro-inflammatoires comme les interleukines 6 et 8 (IL6, IL8), dont la concentration est également induite par les CLA [21], sont également des candidats régulateurs possibles. En effet, ces molécules pourraient limiter la mise en réserve des lipides au niveau de l'adipocyte *via* leur effet inhibiteur sur l'activité du récepteur nucléaire adipogénique PPAR γ [22].

Si les CLA interfèrent avec l'influx des lipides au niveau adipocytaire, en revanche ils ne semblent pas être impliqués dans leur efflux cellulaire. Ce phénomène pourrait expliquer la sensibilité aux CLA variable selon les espèces étudiées. En effet, on peut penser que l'action lipolytique des CLA sera d'autant plus soutenue que la vitesse de renouvellement des réserves lipidiques adipocytaires sera plus rapide, ce qui est le cas chez un très petit mammifère comme la souris. *A contrario*, chez l'Homme, l'impact modeste qu'exercent les CLA sur la masse grasse pourrait être dû à des durées d'exposition trop courtes compte tenu de la faible vitesse de renouvellement des réserves adipeuses [23].

Une modification de la masse grasse s'accompagne également d'une perturbation de la sécrétion des hormones adipocytaires. Par exemple, il est bien établi que la leptinémie est directement proportionnelle aux réserves adi-

peuses. En accord avec cette observation, on constate chez la souris que la concentration plasmatique de leptine, mais aussi d'adiponectine, chute de façon rapide et conséquente en réponse à l'ingestion de CLA [8, 9, 24]. Ces modifications ne peuvent pas être anodines compte tenu de l'influence qu'exercent ces deux hormones sur la réponse tissulaire à l'insuline [25].

Les CLA induisent une stéatose hépatique

La consommation chronique d'un régime enrichi en t10,c12-CLA s'accompagne chez la souris d'une accumulation massive de lipides dans le foie (figure 1) [8, 9]. Ce phénomène est en partie dû à la mise en place d'un programme de type adipogénique au niveau du foie. Cela se traduit par l'induction de gènes adipocytaires qui sont peu, voire pas du tout, exprimés par l'hépatocyte dans les conditions physiologiques normales. C'est le cas notamment du *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR γ) et de certains de ses gènes cibles comme le *fatty acid transporter* (FAT/CD36) et l'*adipocyte lipid-binding protein* (ALBP/aP2), connus pour être impliqués dans le captage et la circulation des acides gras à longue chaîne au niveau adipocytaire [9]. L'induction de l'expression de PPAR γ au cours de la stéatose hépatique semble être une constante. En effet, elle est systématiquement retrouvée chez des animaux dont le foie accumule anormalement des lipides. C'est le cas notamment des souris lipotrophiques A-ZIP/F-1 et aP2/DTA ou génétiquement obèses ob/ob. Le fait que l'inactivation hépatique du gène codant pour PPAR γ réduise fortement la stéatose hépatique dans ces modèles souligne le rôle crucial exercé par ce récepteur nucléaire dans ce processus [26,

27]. Parallèlement à l'induction de gènes adipocytaires, les CLA stimulent directement la lipogenèse hépatique en augmentant l'expression et l'activité des enzymes limitantes de cette voie métabolique, à savoir l'*acetyl-CoA carboxylase* (ACC), la *fatty acid synthase* (FAS) et la *stearoyl-CoA desaturase* (SCD-1) [8, 9, 28]. Il est probable que ces changements sont la conséquence de l'induction de l'expression du facteur de transcription SREBP-1 (*sterol responsive element-binding protein 1*) [9] dont le rôle-clé dans le contrôle de la lipogenèse hépatique a été clairement établi [29]. Cette activité lipogénique soutenue s'accompagne d'une dépression de la β -oxydation mitochondriale en raison de l'accumulation de métabolites inhibiteurs (malonyl-CoA) [30].

En dépit de stéatoses qui peuvent être massives, les rares analyses histologiques du tissu hépatique publiées à ce jour n'ont pas révélé l'existence d'atteintes tissulaires irréversibles chez la souris soumise à un régime enrichi en CLA.

Les CLA favorisent la prolifération des cellules à insuline

Un des effets indésirables majeurs induit par la consommation de CLA chez la souris est la mise en place d'une hyperinsulinémie drastique (figure 1). L'utilisation d'îlots pancréatiques isolés nous a permis de montrer récemment que les CLA induisent une forte augmentation de la sécrétion basale et stimulée d'insuline. Ce phénomène s'explique par une hyperplasie des cellules β productrices d'insuline [24]. L'origine de cette prolifération cellulaire n'est pas encore totalement établie. Deux alternatives non mutuellement exclusives peuvent être envisagées. Les CLA pourraient promouvoir la prolifération cellulaire des îlots de Langerhans en inhibant l'expression de PPAR γ , action déjà observée au niveau du tissu adipeux (voir ci-dessus). En effet, l'inactivation ciblée de PPAR γ au niveau pancréatique s'accompagne d'une hyperplasie des cellules β [31]. L'hyperplasie pourrait également constituer une réponse compensatoire à l'insulino-résistance chronique qui caractérise les animaux traités avec des CLA puisqu'une augmentation de la prolifération des cellules β est systématiquement trouvée dans tous les modèles murins où la sensibilité à l'insuline est réduite [32].

Il faut cependant souligner que l'ampleur de l'hyperinsulinémie observée ($\times 100$, figure 1) chez les souris recevant des CLA est sans commune mesure avec l'augmentation des capacités insulino-sécrétoires ($\times 3$) mesurées sur îlots isolés. Ceci suggère que d'autres paramètres, comme par exemple une diminution de la clairance de l'hormone, pourraient jouer un rôle non négligeable dans la mise en place de l'hyperinsulinémie.

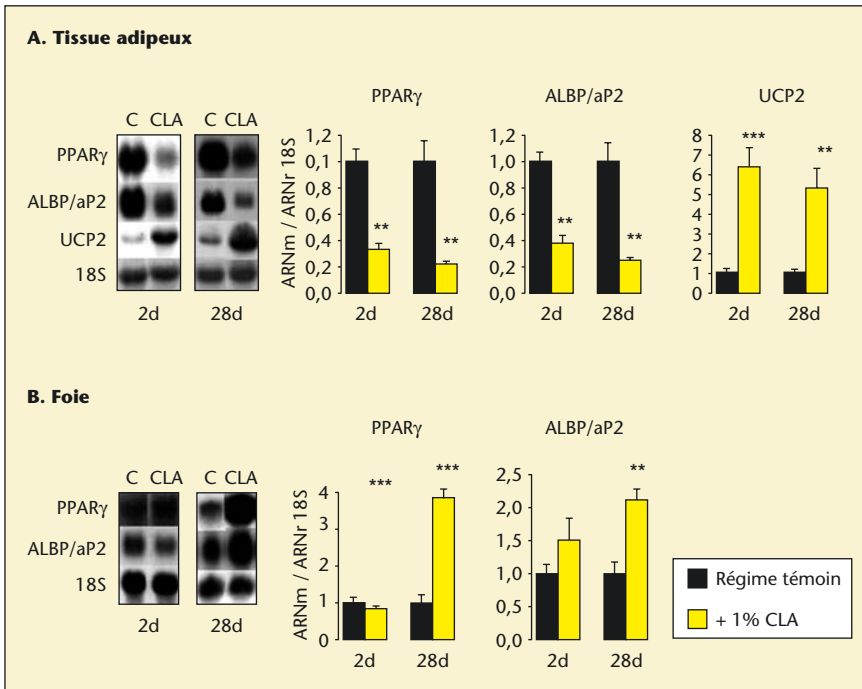


Figure 2. Etude comparative de l'expression de gènes régulés par les CLA dans le tissu adipeux (A) et le foie (B). Des souris ont été alimentées durant une période allant de 2 à 28 jours avec un régime contenu 1 % d'un mélange isomérique commercial de CLA. Le taux relatif d'ARNm des gènes étudiés, évalué par Northern blotting, a été quantifié par analyse densitométrique et standardisé par rapport aux ARNr 18S des échantillons (histogrammes). PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; ALBP/aP2, adipocyte lipid-binding protein; UCP2, uncoupling protein 2.

Chronologie des événements aboutissant au syndrome lipoatrophique

La prise de CLA chez souris déclenche une série de perturbations qui affectent le fonctionnement du tissu adipeux, du pancréas endocrine et du foie. Il est cependant peu probable que ces altérations interviennent simultanément. L'étude comparative de la cinétique d'expression de gènes marqueurs de l'action des CLA conforte cette opinion (figure 2). En effet, deux jours de traitement sont suffisants pour altérer profondément l'expression d'UCP2 et PPAR γ dans le tissu adipeux alors qu'aucun changement n'est observable à ce stade dans le foie. Les taux d'ARNm codant pour le PPAR γ et l'ALBP/aP2 sont induits beaucoup plus tardivement au niveau hépatique (après 28 jours de supplémentation).

Le tissu adipeux semble donc être la cible première des CLA. Ce constat pose la question de l'existence d'une relation de cause à effet entre la fonte des réserves graisseuses et les perturbations pancréato-hépatiques observées. Le fait que la greffe chirurgicale de tissu adipeux chez des souris lipoatrophiques soit suffisante pour normaliser leur insuliniémie et leurs lipides hépatiques conforte cette hypothèse [33]. Il est probable que cet effet correcteur est en partie

dû à la production d'adipokines par le greffon. En effet, l'infusion chronique de leptine est capable de corriger, au moins partiellement, ces paramètres chez les souris supplémentées en CLA [8]. Une correction totale de l'hyper-

insuliniémie a même été obtenue chez des souris lipoatrophiques par la normalisation conjointe de la leptinémie et de l'adiponectinémie [34]. Ces résultats soulignent le rôle homéostatique prépondérant exercé par ces deux adipokines et suggèrent que la diminution drastique des concentrations circulantes observée chez les souris consommant des CLA participe à la mise en place de l'insulino-résistance.

Le syndrome lipoatrophique associé aux CLA est donc un phénomène complexe. Compte tenu de nos connaissances actuelles, le scénario suivant peut être proposé. La consommation de t10,c12-CLA, déclenchant la synthèse et la libération de TNF α , d'IL6 et d'IL8, réduit les réserves adipeuses par apoptose et inhibition génique (figure 3-1). Ces altérations physiques et métaboliques du tissu adipeux entraînent une chute de la synthèse et la sécrétion d'adiponectine et de leptine (figure 3-2) qui se traduisent par une perte de l'insulino-sensibilité périphérique (figure 3-3). Le statut insulino-résistant des animaux entraîne à son tour une hyperplasie compensatrice des cellules β pancréatiques aboutissant à une augmentation de la synthèse et de la sécrétion d'insuline (figure 3-4). Au final, l'hyperinsuliniémie favorise le stockage hépatique de lipides en induisant l'expression de gènes impliqués dans le captage et la synthèse *de novo* d'acides gras (figure 3-5). Parallèlement à cette cascade d'événements, un rôle direct du t10,c12-CLA sur le pancréas et le foie est également envisageable contribuant ainsi au caractère drastique de ce syndrome.

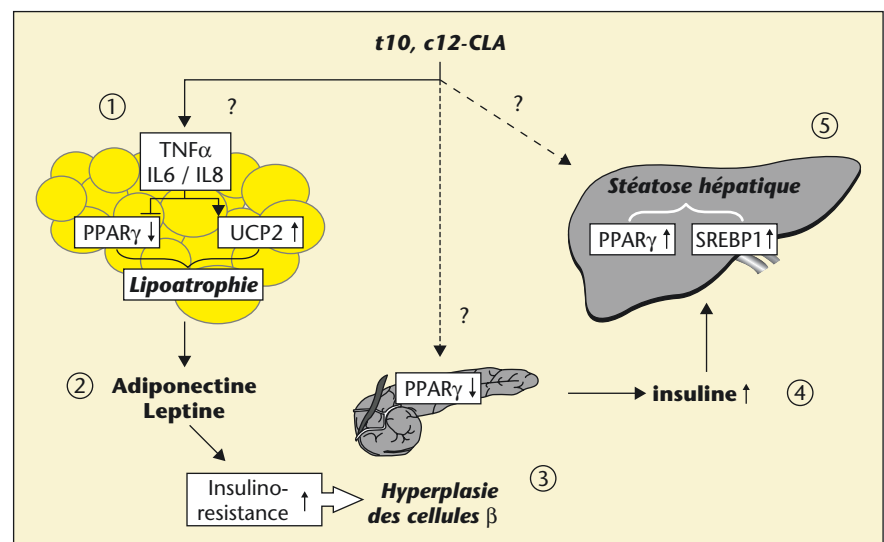


Figure 3. Mise en place du syndrome lipoatrophique induit par les CLA chez la souris : hypothèse de travail. TNF α , tumor necrosis factor α ; IL6/IL8, interleukine 6 et 8; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; UCP-2, uncoupling protein 2; SREBP1, sterol responsive element-binding protein 1.

Conclusion

D'un point de vue fondamental, les souris supplémentées en t10,c12-CLA constituent un modèle particulièrement bien adapté pour appréhender les mécanismes cellulaires et moléculaires responsables des syndromes lipoatrophiques qui, chez l'Homme, peuvent être d'origine génétique (diabète lipoatrophique) ou iatrogène (trithérapie anti-VIH).

D'un point de vue nutritionnel, la vente de CLA soulève au moins deux problèmes. Tout d'abord, ces compléments alimentaires sont proposés pour leurs vertus amaigrissantes alors que toutes les études cliniques réalisées à ce jour concordent au moins sur un point : la prise des CLA n'affecte pas l'indice de masse corporelle. Ensuite, il s'agit de mélanges particulièrement riches en t10,c12-CLA, isomère responsable des effets délétères chez la souris. Bien qu'une extrapolation à l'espèce humaine de l'ensemble des effets délétères observés chez la souris semble irréaliste, les rares études d'intervention réalisées avec du t10,c12-CLA purifié montrent également l'existence d'effets secondaires indésirables chez les patients : augmentation, certes modérée, de l'insulino-résistance et présence de marqueurs sanguins et urinaires du stress oxydatif. Ces données, qui sont malheureusement en bonne adéquation avec celles obtenues chez la souris, posent donc la question de la pertinence de la commercialisation de compléments alimentaires contenant des quantités élevées de t10,c12-CLA. Toutefois, étant donné le petit nombre de sujets inclus dans ces travaux, des études cliniques supplémentaires sont requises pour établir de façon définitive l'impact biologique réel des principaux isomères de CLA présents dans les mélanges commerciaux. En attendant le résultat de ces travaux, il serait souhaitable, en vertu du principe de précaution, que l'utilisation des mélanges isomériques à forte teneur en t10,c12-CLA soit restreinte chez l'Homme et qu'elle se fasse sous un contrôle médical strict.

Remerciements. Ce travail a reçu le soutien financier du Groupe Lipides et Nutrition (GLN).

RÉFÉRENCES

1. TURPEINEN AM, MUTANEN M, ARO A, *et al.* Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr* 2002 ; 76 : 504-10.
2. IP C. Review of the effects of *trans* fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. *Am J Clin Nutr* 1997 ; 66 : 1523S-1529S.
3. KRITCHEVSKY D, TEPPER SA, WRIGHT S, CZARNECKI SK, WILSON TA, NICOLOSI RJ. Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis : growth and regression of lesions. *Lipids* 2004 ; 39 : 611-6.
4. WANG YW, JONES PJ. Conjugated linoleic acid and obesity control : efficacy and mechanisms. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004 ; 28 : 941-55.
5. PARK Y, ALBRIGHT KJ, LIU W, STORKSON JM, COOK ME, PARIZA M. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 1997 ; 32 : 853-8.
6. WEST DB, DELANY JP, CAMET PM, BLOHM F, TRUETT AA, SCIMECA J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* 1998 ; 275 : R667-R672.
7. MOYA-CAMARENA SY, BELURY MA. Species differences in the metabolism and regulation of gene expression by conjugated linoleic acid. *Nutr Rev* 1999 ; 57 : 336-40.
8. TSUBOYAMA-KASAOKA N, TAKAHASHI M, TANEMURA K, *et al.* Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes* 2000 ; 49 : 1534-42.
9. CLEMENT L, POIRIER H, NIOT I, *et al.* Dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J Lipid Res* 2002 ; 43 : 1400-9.
10. HOUSEKNECHT KL, VANDEN-HEUVEL JP, MOYA-CAMARENA SY, *et al.* Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Comm* 1998 ; 244 : 678-82.
11. MALPUECH-BRUGERE C, VERBOEKET-VAN DE VENNE WP, MENSINK RP, *et al.* Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obesity Res* 2004 ; 12 : 591-8.
12. TERPSTRA AH. Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans : an overview of the literature. *Am J Clin Nutr* 2004 ; 79 : 352-61.
13. RISERUS U, ARNER P, BRISMAR K, VESSBY B. Treatment with dietary trans10cis12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2002 ; 25 : 1516-21.
14. SMEDMAN A, VESSBY B, BASU S. Mechanisms of conjugated linoleic acid-induced peroxidation. *Clin Sci* 2004 ; 106 : 67-73.
15. TERPSTRA AH, BEYNEN AC, EVERTS H, KOCSIS S, KATAN MB, ZOCK PL. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *J Nutr* 2002 ; 132 : 940-5.
16. WEST DB, BLOHM FY, TRUETT AA, DELANY JP. Conjugated linoleic acid persistently increases total energy expenditure in AKR/J mice without increasing uncoupling protein gene expression. *J Nutr* 2000 ; 130 : 2471-7.
17. TAKAHASHI Y, KUSHIRO M, SHINOHARA K, IDE T. Dietary conjugated linoleic acid reduces body fat mass and affects gene expression of proteins regulating energy metabolism in mice. *Comp Biochem Physiol B* 2002 ; 133 : 395-404.
18. MASAKI T, YOSHIMATSU H, KAKUMA T, *et al.* Induction of rat uncoupling protein-2 gene treated with tumour necrosis factor alpha in vivo. *Eur J Clin Invest* 1999 ; 29 : 76-82.
19. KERN PA. Potential role of TNFalpha and lipoprotein lipase as candidate genes for obesity. *J Nutr* 1997 ; 127 : 1917S-1922S.
20. RUAN H, LODISH HF. Insulin resistance in adipose tissue : direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003 ; 14 : 447-55.
21. ALBERS R, VAN DER WIELEN RP, BRINK EJ, HENDRIKS HF, DOROVSKA-TARAN VN, MOHEDE IC. Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 2003 ; 57 : 595-603.
22. BROWN JM, BOYSEN MS, CHUNG S, *et al.* Conjugated linoleic acid (CLA) induces human adipocyte delipidation : autocrine/paracrine regulation of MEK/ERK signaling by adipocytokines. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 26735-47.
23. PARIZA MW, PARK Y, COOK ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res* 2001 ; 40 : 283-98.
24. POIRIER H, ROUAULT C, CLÉMENT L, NIOT I, GUERRE-MILLO M, BESNARD P. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) alters plasma levels of insulin and adipokines and produces a pancreatic beta-cell hyperplasia in the mouse. *Diabetologia* (in press).
25. GUERRE-MILLO M. Adipose tissue and adipokines : for better or worse. *Diabetes Metab* 2004 ; 30 : 13-9.
26. BOELSTERLI UA, BEDOUCHE M. Toxicological consequences of altered peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma) expression in the liver : insights from models of obesity and type 2 diabetes. *Biochem Pharmacol* 2002 ; 63 : 1-10.
27. MATSUSUE K, HALUZIK M, LAMBERT G, *et al.* Liver-specific disruption of PPARgamma in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest* 2003 ; 111 : 737-47.

28. TAKAHASHI Y, KUSHIRO M, SHINOHARA K, IDE T. Activity and mRNA levels of enzymes involved in hepatic fatty acid synthesis and oxidation in mice fed conjugated linoleic acid. *Biochim Biophys Acta* 2003 ; 1631 : 265-73.
29. SHIMANO H, HORTON JD, HAMMER RE, SHIMOMURA I, BROWN MS, GOLDSTEIN JL. Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J Clin Invest* 1996 ; 98 : 1575-84.
30. DEGRACE P, DEMIZIEUX L, GRETI J, CHARDIGNY JM, SEBADIO JL, CLOUET P. Hepatic steatosis is not due to impaired fatty acid oxidation capacities in C57BL/6J mice fed the conjugated trans-10, cis-12-isomer of linoleic acid. *J Nutr* 2004 ; 134 : 861-7.
31. ROSEN ED, KULKARNI RN, SARRAF P, *et al.* Targeted elimination of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in beta cells leads to abnormalities in islet mass without compromising glucose homeostasis. *Mol Cell Biol* 2003 ; 23 : 7222-9.
32. MOITRA J, MASON MM, OLIVE M, *et al.* Life without white fat : a transgenic mouse. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 3168-81.
33. GAVRILOVA O, MARCUS-SAMUELS B, GRAHAM D, *et al.* Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipotrophic mice. *J Clin Invest* 2000 ; 105 : 271-8.
34. YAMAUCHI T, KAMON J, WAKI H, *et al.* The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med* 2001 ; 7 : 941-6.