



**HAL**  
open science

# Programmes d'exercices physiques et supplémentation en vitamine D : effets métaboliques et vasculaires chez l'adolescent obèse

Christopher Morrissey

► **To cite this version:**

Christopher Morrissey. Programmes d'exercices physiques et supplémentation en vitamine D : effets métaboliques et vasculaires chez l'adolescent obèse. Education. Université d'Avignon, 2018. Français. NNT : 2018AVIG0715 . tel-02422709

**HAL Id: tel-02422709**

**<https://theses.hal.science/tel-02422709>**

Submitted on 23 Dec 2019

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

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

**THESE**



**En vue de l'obtention du grade de  
Docteur d'Avignon Université**

Spécialité de doctorat : Physiologie

---

**Programmes d'exercices physiques  
et supplémentation en vitamine D :  
effets métaboliques et vasculaires  
chez l'adolescent obèse**

---

**ECOLE DOCTORALE AGROSCIENCES & SCIENCES, ED536**

Soutenue publiquement le 21/12/2018 par :

**Monsieur Christopher MORRISSEY**

Mme **DUCHE** Pascale, PU, Université de Toulon, Rapporteur

Mr. **CONNES** Philippe, PU, Université de Lyon, Rapporteur

Mr. **LANDRIER** Jean-François, Dr INRA, Marseille, Examineur

Mme. **AMIOT-CARLIN** Marie-Josèphe, Dr INRA, Montpellier, Co-directrice

Mme. **VINET-JULLIAN** Agnès, PU, Avignon Université, Directrice

**THESE**



**En vue de l'obtention du grade de  
Docteur d'Avignon Université**

Spécialité de doctorat : Physiologie

---

**Programmes d'exercices physiques  
et supplémentation en vitamine D :  
effets métaboliques et vasculaires  
chez l'adolescent obèse**

---

**ECOLE DOCTORALE AGROSCIENCES & SCIENCES, ED536**

Soutenue publiquement le 21/12/2018 par :

**Monsieur Christopher MORRISSEY**

Mme **DUCHE** Pascale, PU, Université de Toulon, Rapporteur

Mr. **CONNES** Philippe, PU, Université de Lyon, Rapporteur

Mr. **LANDRIER** Jean-François, Dr INRA, Marseille, Examineur

Mme. **AMIOT-CARLIN** Marie-Josèphe, Dr INRA, Montpellier, Co-directrice

Mme. **VINET-JULLIAN** Agnès, PU, Avignon Université, Directrice



## REMERCIEMENTS

*En préambule, je veux témoigner ma reconnaissance à ma directrice et co-directrice de thèse qui m'ont permis de mener à bien ce projet.*

C'est avec un plaisir sincère que je tiens à remercier le **Professeur Agnès VINET** de m'avoir accompagné durant ces années. Merci Agnès d'avoir accepté de m'encadrer pendant mon stage en Master, et de m'avoir permis de mettre le pied à l'étrier dans ce monde passionnant de la recherche. Ton professionnalisme et ton investissement ont été une source d'inspiration. Je veux également te remercier de m'avoir fait confiance pour les travaux de recherche qui m'attendaient, et de m'avoir formé comme tu l'as fait.

Du mémoire de Master Recherche, aux travaux de thèse en collaboration avec le CHU de Nîmes, l'Institut Saint Pierre de Palavas-les-Flots, et le laboratoire NORT de Marseille, jusqu'à notre dernière collaboration scientifique à Toronto, que d'aventures scientifiques ! Par ces collaborations, tu m'as permis de rencontrer des personnes très appréciables et dévouées pour leur travail. Merci Agnès, tes qualités humaines ont facilité le franchissement d'obstacles que chaque Doctorant peut être amené à rencontrer.

J'ai beau avoir été un bon coureur de demi-fond, je ne m'attendais pas à un tel marathon ! Toutes ces expériences, aussi grâce à toi, sont inoubliables et m'ont fait grandir. Je te suis très reconnaissant.

**Marie-Josèphe CARLIN**, merci. Je te suis tout aussi reconnaissant. Marie-Jo, un grand merci pour m'avoir accordé ta confiance, ainsi que pour ta bienveillance et tes nombreux conseils. Tu as aussi trouvé les mots qui rassurent, cela a beaucoup compté pour moi. Même si je dois avouer avoir pris quelques cheveux blancs pendant l'année du M2 et la thèse, je signerais pour repartir

en aventure avec la même équipe ! Et dire que j'ai le privilège d'être ton dernier Thésard, j'espère que cela restera un bon souvenir gravé pour toi ☺.

Je tiens à remercier sincèrement les **Professeurs Pascale DUCHE** et **Philippe CONNES** de me faire l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et d'en être les rapporteurs. Merci également au **Docteur Jean-François LANDRIER** pour l'intérêt manifesté à l'égard de ce travail et pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit.

Je remercie chaleureusement les personnes qui ont soutenu et accompagné mes travaux de recherche durant mon Master 2 recherche et durant la thèse. Je suis très reconnaissant au **Professeur Antonia PEREZ-MARTIN** pour m'avoir accueilli au sein du service « Exploration et Médecine Vasculaire » du CHU de Nîmes. Merci Antonia pour vos conseils et votre expertise aux différentes étapes de mon parcours. Je tiens à remercier le **Docteur Cécile RAVERDY**, Responsable de l'Unité Pédiatrie de l'Institut Saint Pierre ainsi que le **Docteur Delphine MASSON**, pour votre aide, votre gentillesse et votre implication au travers toutes nos collaborations. Vous m'avez accueilli dans les meilleures conditions au centre de soins de suite et de réadaptation à Palavas-les-Flots.

Je suis très reconnaissant aux membres de l'équipe de « Saint Pierre » qui ont participé à la réussite de ce travail de thèse. Je pense à **Caroline SOBRAQUES**, à **Marion MAUREL**, à **Corinne** l'infirmière en chef, à la diététicienne de l'unité, pour l'excellent travail de coordination réalisé. Un grand merci également aux éducateurs sportifs qui ont manifesté un véritable enthousiasme et un esprit très coopératif pour l'encadrement des programmes en activités physiques adaptées. Une pensée et un remerciement sincère à tous les adolescents souffrant d'obésité qui ont été volontaires et appliqués tout au long des programmes d'entraînement.

Une thèse, c'est dur et merveilleux à la fois...

On voyage, on rencontre des gens, et chacun peut nourrir l'autre, au sens philosophique du terme bien sûr ! J'ai eu la chance de rencontrer des membres de l'équipe de recherche du laboratoire NORT. Et je peux dire qu'ils ont des chercheurs aussi sympathiques qu'au LaPEC.

Un grand merci au **Docteur Catherine DEFOORT** pour son accueil et sa gentillesse. Catherine a fait preuve de beaucoup de pédagogie pour me former à la préparation des échantillons urinaires et plasma avant caractérisation par analyse métabolomique. Je remercie **Catherine TARDIVEL**, ingénieur de recherche au laboratoire NORT qui m'a fait découvrir les joies des dosages de protéines des échantillons avec les kits Elisa. Merci Catherine pour ta bienveillance et les moments agréables à discuter.

Merci à **Sandrine GAYRARD** pour m'avoir formé aux techniques de manipulation au LaPEC. Merci pour ton professionnalisme, tu as su veiller à ce que tout fonctionne avant le rush des manipulations !

**LaPEC** en tant que personne morale, j'ai envie de te dire toute ma gratitude. Et oui, il y a une âme dans le LaPEC ! Ce mot sexy qui signifie Laboratoire Pharm-Ecologie Cardiovasculaire, et là, tout devient plus clair. En 1999, c'est la création du laboratoire de recherche... deux années avant d'entamer mes années universitaires en Licence STAPS mention Entraînement et Performance Motrice à Avignon, option hélas disparue depuis...

Autant vous dire à quel point le LaPEC et le Pôle STAPS sont devenus un peu comme une deuxième maison. D'un point de vue de l'épigénétique, il serait légitime de se poser la question à quel point le STAPS d'Avignon a imprégné mon organisme ? 8 années voire 9 années d'études dans l'antre du STAPS Avignonnais, cela signifie tout simplement que j'ai stapsé un cinquième de ma vie !

Je voudrais dire tout le respect et l'admiration que j'éprouve pour le **Professeur Philippe OBERT** qui n'a jamais laissé indifférent les étudiants, moi le premier. Merci Philippe pour ton dévouement au service de la recherche, pour ce que tu as apporté à l'université STAPS d'Avignon. Tu as été une source d'inspiration pour moi et nombreux de mes collègues ; enfin, merci pour ta bienveillance à notre égard. (PS : je sais que je te dois un programme de préparation physique en Golf. Je prends parfois le temps mais je ne manque jamais de tenir mes promesses !).

Le LaPEC représente beaucoup plus qu'un laboratoire de recherche... Il incarne l'université d'Avignon à mes yeux. Et je dois tout de même à l'Université d'Avignon d'avoir rencontré ma femme ! Nous y reviendrons...

Lorsqu'on débute en recherche, il y a de quoi être impressionné par les connaissances et l'expérience acquise des Docteurs et Professeurs qui nous encadrent ; mais l'humilité et la bienveillance dont ils font preuve m'ont aidé à me hisser à un meilleur niveau scientifique. La passion qui anime les chercheurs de cette équipe est exemplaire et on sent bien que vos objectifs dépassent votre propre personne.

Je veux donc remercier très chaleureusement tous mes mentors et enseignants dont j'ai le souvenir, ceux-là mêmes qui ont participé de ma formation scientifique durant toutes ces années.

En commençant par mes enseignements reçus à Avignon : **Stéphane NOTTIN, Catherine RIVA, Cyril REBOUL, Agnès VINET, Guillaume WALTHER, Grégory MEYER, Pascal LAURANT, Marie-Josèphe AMIOT-CARLIN, Stéphane TANGUY, Véronique BRICOUD, Guilhem VEZIER, Stéphane LAURANT, Fabienne DURAND, Bernard JOVER**

Puis, à Montpellier et Marseille : **Stéphane PERREY, Robin CANDAU, Jacques MERCIER, Angel CHOPARD, Simone DALLA BELLA, Jérôme MANETTA, Jean-Frédéric BRUN, David BENDAHAN et Alain VARRAY.**

Mes pensées traversent l'océan atlantique pour remercier l'équipe de recherche du **Professeur Angelo BELCASTRO** avec qui j'ai eu l'honneur de travailler au sein de l'université York de Toronto dans le département « School of Kinesiology and Health Sciences ». Pendant 3 mois j'ai pu réaliser de nouvelles évaluations et élever mes compétences techniques en évaluation de la fonction macrovasculaire. Un grand merci également à **Asal Moghaddaszadeh** son étudiante en Doctorat avec qui nous avons collaboré et qui m'a permis de m'intégrer dans l'univers canadien. Toute ma reconnaissance également aux **Docteurs Heather EDGELL et Emilie ROUDIER** pour avoir facilité mon accueil au sein de l'Université et pour m'avoir apporté une assistance technique.

Je ne pourrais pas oublier de remercier **Natacha BENALI et Marielle BLANC**. Merci pour votre extrême gentillesse, vous n'hésitez jamais lorsqu'il s'agit de rendre service aux doctorants pour leur faciliter la tâche dans tout ce qui a trait à l'administratif et nos missions.

Merci à **Allal BERRAG**, notre responsable technique, pour tous les services rendus et pour avoir supporté avec patience mes « ...promis, j'ai bientôt fini, je ne tard pas à partir ! ». Je n'oublie pas que tu nous as couvert avec Omar pour quelques veillées de travail nocturnes, toujours dans la bienveillance 😊.

Merci aussi à Mercedes et Jenny pour votre gentillesse et votre bonne humeur qui ont participé de rendre mon quotidien de doctorant plus agréable.

Une dédicace spéciale au **Docteur Omar IZEM** qui a été mon collègue de galère (si je puis dire !) de la première année universitaire jusqu'à notre dernière année d'études doctorales. Que

de bons moments passés... des doutes et des aventures aussi (dont seuls nous en avons le secret !). Le master et le Doctorat n'auraient pas eu la même saveur sans toi, c'est sûr. Tu as été un soutien important et j'ai eu la chance de te rencontrer en master 1<sup>ère</sup> année. Je te souhaite la meilleure suite possible et beaucoup de bonheur à venir.

Merci à tous mes collègues du bureau des doctorants pour leur excellent esprit de camaraderie. Il fait bon d'étudier au LaPEC ! Je remercie Antoine le Brillant avec qui j'ai partagé de très bons moments d'entraînements sportifs et avec qui j'espère réaliser des projets à l'avenir ; merci à Doria la sage, Claire notre intrépide Judoka avec qui nous avons monté quelques escaliers, Clothilde l'appliquée, Gaetan revenu dans le team LaPEC, Charlie... ah charlie ! Notre clairon et le bon vivant du labo. C'est vrai qu'il parle fort, un vrai ténor... mais quel grand cœur ! Je te remercie sincèrement Charlie pour m'avoir fait gagner du temps dans la mise en forme de mon document à un moment si crucial ☺. Je pense également au Docteur Aurélie GONCALVEZ avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à collaborer lors de son année à Avignon, merci Aurélie pour tes nombreux conseils.

Enfin, je n'oublie pas tous mes collègues docteurs et ex-doctorants qui m'auront laissé un excellent souvenir : merci à Cindy l'animatrice des doctorants, Saloua toujours prête à rendre service, Sandrine notre doctorante doc', Julien mon collègue de bureau, Adrien (le disparu !), Juan le Ténébreux, Thomas le romantique, Jordan notre collègue australien, Laura et Sylvain, Alexandro le Brésilien pour de vrai, et mille excuses à ceux que j'aurais omis de mentionner.

A tous les nouveaux doctorants, je vous souhaite courage, détermination et réussite.

Je tiens à remercier tout spécialement mes **beaux parents**, Alain et Martine, qui m'ont accompagné toutes ces années. Je les remercie du fond du cœur pour leur dévouement et leur

assistance indéfectible. Ils ont toujours été d'un grand réconfort et partagent malgré ou bon gré les nombreuses aventures des MORRISSEY ! ☺

Merci à **mes parents** pour m'avoir donné l'affection et la bonne éducation qui aident une âme à se tenir droite dans différentes circonstances. Merci de m'avoir inculqué de belles valeurs, c'est aussi à vous que je dois la place qui est la mienne aujourd'hui, car personne ne se fait tout seul. Vous pouvez être fiers d'avoir réussi à élever deux garçons, chose qui n'est jamais simple ☺

**A mes enfants.** Arrivé en Master, Papa a 3 enfants, en Thèse 4 - puis 5 ! Je vous remercie les enfants d'avoir supporté votre papa qui a souvent répété ses oraux dans le salon. On ne compte plus le nombre de « chut ! » répétitif de votre Papa. J'espère que vous allez tous trouver votre voie dans ce monde, une voie heureuse, je serais là pour vous y aider.

A toi Amandine, ma Femme,

Quel bonheur de vivre et d'évoluer à tes côtés.

Sans toi, je ne serais pas arrivé là où j'en suis aujourd'hui. Tu es celle qui me comprend le mieux et dont les mots éteignent mes feux. Tu as toujours cru en moi, et tu as toujours su réveiller mon esprit de compétition lorsque cela était nécessaire.

Ta persévérance en toutes circonstances m'a aussi inspiré la persévérance tant nécessaire pour réussir dans de longues études.

Après ma licence STAPS et de longues années investies dans la préparation de sportifs de haut niveau, j'ai choisi de reprendre les études... Ce choix n'a été facile ni pour moi ni pour toi.

## *Remerciements*

Avec 3 - puis 4 loulous à charge, sans compter nos choix de vie, cela a impliqué des sacrifices quotidiens importants. Réjouissons-nous de tout ce travail accompli !

Tous les remerciements que je pourrais t'adresser ne sauraient jamais être à la hauteur de ton dévouement et de ton amour au quotidien.

Nous étions bien plus jeunes quand nous nous sommes rencontrés à l'Université d'Avignon... en fermant le chapitre de cette thèse, je t'entends déjà souffler un « ouf enfin ! » ... pour autant, d'autres chapitres de vie nous attendent, et je suis impatient de les découvrir avec toi.

Merci du fond du cœur, ton maridou qui t'aime ☺

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>24</b>
<b>REVUE DE LITTERATURE .....</b>	<b>27</b>
1. L'obésité de l'enfant et de l'adolescent .....	28
1.1 Définition .....	28
1.2 Données épidémiologiques.....	31
1.3 Physiopathologie de l'obésité, ses déterminants et ses complications.....	32
1.3.1 Physiopathologie .....	32
1.3.2 Les déterminants .....	35
1.3.2.1 Génétique et obésité .....	35
1.3.2.2 Excès d'apports énergétiques et déséquilibre de la balance énergétique .....	35
1.3.2.3 Sédentarité et inactivité physique .....	36
1.3.2.4 Environnement social et économique .....	37
1.3.3 Les complications .....	38
1.3.3.1 Les complications métaboliques.....	38
1.3.3.2 Les complications cardiovasculaires .....	49
2. Effets vasculaires de l'obésité .....	51
2.1 Qu'est-ce que la fonction vasculaire ? .....	51
2.2 Régulation du tonus vasculaire.....	54
2.2.1 Facteurs de vasoconstriction.....	55
2.2.2 Facteurs de vasodilatation .....	56
2.3 Effets de l'obésité infantile sur la fonction vasculaire .....	59
2.3.1 Remodelage artériel .....	59
2.3.2 Fonction artérielle .....	61
2.3.2.1 Vasoréactivité des artères de conduit .....	62
2.3.2.2 Vasoréactivité au niveau microcirculatoire .....	65
2.3.2.3 Effets vasculaires de l'insuline .....	67

2.4	Obésité, déficience en vitamine D, et fonction vasculaire.....	68
2.4.1	La vitamine D .....	68
2.4.1.1	Origine et métabolisme de la vitamine D .....	69
2.4.1.2	Déterminants du statut en vitamine D .....	72
2.4.1.3	Apports recommandés en vitamine D .....	73
2.4.1.4	Evaluation du statut en vitamine D.....	74
2.4.1.5	Mécanismes d’action de la vitamine D .....	76
2.4.2	Obésité infantile et vitamine D.....	82
2.4.2.1	Facteurs d’ordre général.....	82
2.4.2.2	Facteurs spécifiques à l’obésité .....	83
2.4.3	Vitamine D, obésité infantile et complications métaboliques et vasculaires.....	84
3.	Effets de différentes stratégies interventionnelles sur la fonction vasculaire chez l'enfant obèse.....	86
3.1	Effets de l’exercice chronique sur la fonction vasculaire (en général) .....	87
3.2	Effets vasculaires de l’exercice chronique chez enfant obèse .....	89
3.2.1.1	Sur le plan morphologique.....	91
3.2.1.2	Sur le plan biomécanique .....	91
3.2.1.3	Sur le plan fonctionnel.....	91
3.3	Modalités de réentraînement à l’effort.....	92
3.3.1	L’évaluation de la capacité aérobie : un préalable avant la programmation d’un réentraînement chez les enfants obèses.....	93
3.3.2	Quelle(s) modalité(s) de réentraînement à l’effort chez les enfants obèses ? .....	94
3.4	Effets d’une supplémentation en vitamine D .....	95
3.4.1	Quelle dose de VD est nécessaire pour retrouver un niveau satisfaisant en VD ?.....	95
3.4.1.1	Recommandations de la supplémentation en VD en population générale.....	95
3.4.1.2	Recommandations spécifiques en supplémentation en VD chez les enfants obèses.....	96
3.4.2	Effets d’une supplémentation en VD sur les anomalies métaboliques, l’inflammation et la fonction vasculaire.....	97
3.4.3	Effets de la VD sur la fonction vasculaire .....	99

3.4.4	Effets de la VD sur la performance physique .....	100
4.	Objectifs de la thèse .....	101
	<b>Organisation des études.....</b>	<b>104</b>
1.	Matériels et méthodes .....	105
1.1	Populations et critères d’inclusion.....	105
1.2	Programmes interventionnels .....	106
1.3	Programmes de réentraînement .....	107
1.3.1	Programme en mode intensif intermittent .....	107
1.3.2	Programme en mode modéré continu .....	107
1.4	Supplémentation en VD .....	108
1.5	Enquête alimentaire.....	108
1.6	Evaluation des paramètres anthropométriques .....	108
1.7	Bilan biologique .....	109
1.7.1	Evaluation du profil glucido-lipidique (études 1 et 2) .....	109
1.7.2	Evaluation du statut inflammatoire (étude 2).....	109
1.7.3	Evaluation du statut en vitamine D .....	110
1.8	Evaluation de l’aptitude physique (études 1 et 2) .....	110
1.9	Bilan de pigmentation de la peau (étude 2).....	110
1.10	Evaluations vasculaires.....	111
1.10.1	Evaluation de la microcirculation cutanée .....	111
1.10.1.1	Variables et expression des résultats.....	120
1.10.2	Evaluation de la macrocirculation (étude 2).....	120
2.	Traitement statistique.....	126
3.	Résultats d’études .....	128
3.1	Etude 1 .....	129
3.2	Etude 2 - article 1 .....	141
3.3	Etude 2 - article 2 .....	175
3.4	Etude 2 - article 3 .....	194

<b>DISCUSSION GENERALE .....</b>	<b>212</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>227</b>
<b>ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>227</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>231</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>262</b>

## VALORISATION

❖ Article publié

**“Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents.”**

Morrissey Christopher, Montero David, Raverdy Cécile, Masson Delphine, Amiot Marie Joséphe, Vinet Agnès. Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents. International Journal of Sports Medicine (2018)

❖ Article en cours de soumission

**“Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on carotid intima-media thickness and compliance in obese adolescents.”** C Morrissey, D Montero, A Pérez-Martin, A Goncalvez, C Raverdy, D Masson, MJ Amiot, C Tardivel, S Gayrard, M Carrere, A Vinet, MJ Amiot. Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents. Article soumis à Annals Nutrition and Metabolism (2018).

❖ Article en finalisation d’écriture

**“Vitamin D supplementation on cardiometabolic factors and inflammatory status in adolescents with obesity submitted to a weight-loss program.”** C Morrissey, A Pérez-Martin, C Defoort, C Raverdy, D Masson, C Tardivel, S Gayrard, A Goncalvez, M Carrere, MJ Amiot, AVinet. (en cours de finalisation d’écriture, 2018).

❖ Article en finalisation d’écriture

**“Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on micro- and macrocirculation in obese adolescents: a double-blind randomized trial VIDADO.”**

C Morrissey, A Pérez-Martin, C Raverdy, D Masson, MJ Amiot, AVinet. (en cours de finalisation d’écriture, 2018).

❖ Communication orale

**« Lifestyle intervention associated with vitamin D supplementation induced additional loss of abdominal fat in obese adolescents: a double-blind randomized controlled trial.»** C Morrissey, D Montero, C Raverdy, D Masson, MJ Amiot, AVinet. International Congress of Nutrition (ICN, Buenos Aires, Argentina, 2017)

❖ Communications sous forme de poster

**« Entraînement intense intermittent vs entraînement modéré continu chez des adolescents obèses»**

C Morrissey, C Raverdy C, D Masson, C Sobraques, M Maurel, AVinet. Congrès de l'Association Française d'Etude et de Recherche pour l'Obésité (AFERO, 2014).

**« Association entre le taux de 25-Hydroxyvitamine D et les paramètres d'adiposité et de fonction vasculaire chez les adolescents obèses. »** Morrissey C, Raverdy C, Pérez-Martin A, Amiot MJ, Vinet A. Journées Francophones de Nutrition (JFN, 2015).

**« Effets microvasculaires d'une intervention associant diète et exercice chez les adolescents obèses : influence du type d'exercice. »**

Morrissey C, Montero D, Raverdy C, Masson C, Amiot MJ, Vinet A. Journées Francophones de Nutrition (JFN, 2016).

**« Cholecalciferol supplementation does not improve arterial stiffness in obese adolescents: a double-blind randomized trial.»**

Christopher Morrissey, Antonia Perez-Martin, Catherine Defoort, Catherine Tardivel, Cécile Raverdy, Cécile Masson, Marie-Josephe Amiot, Agnès Vinet. European congress of Obesity, Porto (ECO, 2017).

**Intitulé du laboratoire :**

**Laboratoire de Pharm-écologie Cardiovasculaire (LAPEC)**

**Unité de recherche EA 4278**

**Thématiques :**

- **physiopathologie et physiologie de la dysfonction endothéliale**
- **approches couplant exercice physique et nutrition**
- **réponses et adaptations du coeur et des vaisseaux, maladies cardiométaboliques**

**Sous la direction de : Pr Agnès VINET**

**74 rue Louis Pasteur, 84 000 Avignon**

## **INDEX DES ABREVIATIONS**

ACH : Acétylcholine

ENOS : Endothelial nitric oxide synthase

AMPc : Adénosine monophosphate  
cyclique

EIMc : Epaisseur intima-média carotidien

AP : Activité physique

FMD : Vasodilatation flux-dépendante

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

FMN : Flavine mononucleotide

BH4 : Tétrahydrobioptérine

GMPc : Guanosine monophosphate  
cyclique

FAD : Flavine adénine dinucléotide

GSH : Glutathion

CD36 : Glycoprotéine de  
l'adhésion/agrégation plaquettaire

HAS : Haute autorité de la santé

CML : Cellules musculaires lisses

HDL-C : High-density lipoprotein  
cholesterol

COX : Cyclooxygénases

hs-CRP : High sensitivity C-reactive  
protein

DAG : 1,2 diacylglycerol

HOMA-IR : Homeostasis model  
assessment of insulin resistance index

DN : Dérivé nitré

EDHF : Endothelium-Derived  
Hyperpolarizing Factor

HIIT : Entraînement par intervalle de haute  
intensité

EIM : Epaisseur intima-média

IDF : Fédération internationale du diabète

IL-6 : Interleukin 6	NW : Normal-weight
IMC : Indice de masse corporelle	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
IOM : Institute of Medecine	OS : Obese supplemented with vitamin D
IOTF : International Obesity Task Force	ONS : Obese non-supplemented with vitamin D
LDL-C : High-density lipoprotein cholesterol	PA : Pression artérielle
LDF : Laser Doppler Flowmetry	PAS : Pression artérielle systolique
LSCI : Laser Speckle Contrast Imaging	PGI2 : Prostaglandine I2 ou Prostacycline
MAPK : Mitogen-activated protein kinases	PI3K : Phosphatidylinositol-4,5- bisphosphate 3-kinase
MDA : Malondialdéhyde	PIV : Pressure-Induced Vasodilation
METs : Equivalent métabolique	PKA : Protéine Kinase A
MPO : Myéloperoxydase	PKG : Protéine kinase G
MCT : Moderate continuous training	PNNS : Programme national nutrition santé
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	PORH : Hyperémie réactive post-occlusion
NO : Nitric Oxide (Monoxyde d'azote)	P-450 : P-450, cytochrome
NPC1-L1 : Protéine de transport du cholestérol	

QUICKI : Quantitative Insulin Sensitivity  
Check Index (index d'insulinosensibilité)

25(OH)D : 25-hydroxyvitaminD

RAS : petite protéine GTPase de la famille  
des protéines G

SD : Standard deviation

SNP : de sodium

SOD : Superoxide dismutase

SSR : Etablissement de soins de suite et de  
réadaptation

TxA2 : Thromboxane A2

TG : Triglycerides

TNF : Tumor necrosis factor

UVB : Rayonnement ultraviolet

VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion  
Molecule 1

VD : Vitamin D

VDR : Récepteur de la vitamine D

VEGF : Endothelial Growth Factor

## **INDEX DES FIGURES**

<b>Figure 1.</b> Courbes d'IMC provenant de diverses références et normes. ....	29
<b>Figure 2.</b> Périodes critiques du développement de l'obésité (González-Muniesa et al., 2017) .....	33
<b>Figure 3.</b> Histoire naturelle de l'obésité. (Faucher and Poitou, 2016).....	34
<b>Figure 4</b> Sécrétion d'adipokines par les différents compartiments de tissus adipeux et leurs impacts sur la fonction vasculaire .....	43
<b>Figure 5.</b> Lien entre l'expression et la sécrétion des adipokines par le tissu adipeux et l'insulino-résistance chez des sujets obèses (Bastard, 2006).....	47
<b>Figure 6.</b> Contribution de l'inflammation et du stress oxydant à la dysfonction endothéliale	48
<b>Figure 7.</b> Mécanismes de dysfonction vasculaire liée à l'obésité chez les enfants obèses. Schéma adapté (Cote et al., 2015).....	50
<b>Figure 8.</b> Différentes couches constitutives d'une artère.....	52
<b>Figure 9.</b> Organisation de la microcirculation cutanée.....	54
<b>Figure 10.</b> Facteurs de vasorelaxation dépendants de l'endothélium.....	57
<b>Figure 11.</b> Schéma de Montero, 2011. Relation entre inflammation de bas bruit, stress oxydant et dysfonction endothéliale chez les enfants obèses.....	65
<b>Figure 12.</b> Formes de vitamine D alimentaire (D2 et D3) et leur métabolite actif (calcitriol)	70
<b>Figure 13.</b> Métabolisme de la vitamine D.....	71
<b>Figure 14.</b> Déterminants du statut en vitamine D. Schéma adapté de (Gangloff et al., 2016)	72
<b>Figure 15.</b> Effets osseux et extra-osseux de la vitamine D.....	77
<b>Figure 16.</b> Effets génomiques de la vitamine D.....	79
<b>Figure 17.</b> Rôle de la vitamine D au niveau de l'endothélium vasculaire.....	81
<b>Figure 18.</b> Adaptation vasculaire à l'exercice chronique. ....	89
<b>Figure 19.</b> Principe du Laser Doppler .....	112
<b>Figure 20.</b> Principe du Laser Speckle Contrast Imaging .....	113

**Figure 21.** Représentation du flux microvasculaire cutané mesuré par laser doppler..... 115

**Figure 22.** Pattern de perfusion cutanée pendant et immédiatement après une occlusion au niveau des artères de conduit :Voies impliquées dans la réponse..... 116

**Figure 23.** Système de délivrance transcutanée de substances vasoactives et caméra LSCI. 118

**Figure 24.** Images d'artère brachiale ..... 121

**Figure 25.** Schéma évaluation de la vasomotricité au niveau de l'artère brachiale ..... 124

## **INDEX DES TABLEAUX**

**Tableau 1.** Teneur en vitamine D pour 100 g d'aliment (Table du CIQUAL 2012) .....70

**Tableau 2.** Bilan des références nutritionnelles pour la vitamine D ( $\mu\text{g}/\text{j}$ ) ( $1 \mu\text{g} = 40 \text{ UI}$ ) (Tableau de l'Anses, 2016).....74

**Tableau 3.** Statut en vitamine D en fonction des niveaux plasmatiques de 25(OH)D d'après un consensus de sociétés savantes .....76

**Tableau 4.** Effets vasculaires de l'exercice physique chez les enfants et adolescents obèse d'après Dengel et Ryder (2017) .....90

**Tableau 5.** Récapitulatif des bilans réalisés et des variables mesurées dans les 2 études. ....125

# **INTRODUCTION**

La prévalence de l'obésité infantile est en augmentation constante et constitue un enjeu majeur de santé publique tant en France qu'à l'international. Depuis quelques décennies, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) incite les nombreux pays touchés par l'obésité à mettre en œuvre des plans d'actions sur la nutrition, l'activité physique et la santé pour endiguer cette « épidémie » (qualifiée ainsi par l'OMS, 2003). L'OMS, dans son dernier rapport de 2016 sur l'enfance et l'obésité, estime qu'au moins 41 millions d'enfants de moins de 5 ans sont atteints de surpoids ou d'obésité, définis comme la proportion d'enfants ayant des valeurs de z-score pondérées pour le poids à plus de 2 SD et plus de 3 SD respectivement, telles que définies par les médianes de populations de référence (OMS, 2016). En France, un plan d'action de santé publique quinquennal qui vise à améliorer l'état de santé de la population a été initié dès 2001 (Programme National Nutrition Santé PNNS). Tous les cinq ans, le PNNS propose des actions ciblant la nutrition comme un déterminant majeur de l'équilibre entre les apports liés à l'alimentation et l'activité physique pour l'équilibre de la balance énergétique. Le rapport d'expertise collective sur l'activité physique – contextes et effets sur la santé (Chapitre obésité) mené en 2008 par l'INSERM, a souligné l'enjeu de l'activité physique dans le contexte actuel de « l'épidémie » d'obésité. En 2011, la Haute Autorité de la Santé (HAS) a actualisé ses recommandations de bonnes pratiques sur la prise en charge médicale du surpoids et de l'obésité de l'enfant et de l'adolescent. Parmi ses recommandations, l'activité physique et la sédentarité doivent être évaluées comme un préalable essentiel et nécessaire pour tous les acteurs de la prise en charge de l'obésité infantile. Bien que le PNNS délivre des messages adressés à la population générale en recommandant une pratique régulière de l'activité physique, messages relayés par les professionnels de la santé, des recommandations spécifiques et des conseils adaptés aux populations spécifiques, comme les enfants et adultes obèses, sont nécessaires pour être efficaces. L'obésité caractérisée par un déséquilibre énergétique s'accompagne fréquemment d'un déficit en nombreux micronutriments (Carpentier et al., 2013), notamment

un déficit en vitamine D. La vitamine D est synthétisée dans l'organisme humain à partir d'un dérivé du cholestérol sous l'action des rayonnements UVB. Or, les enfants obèses s'exposent peu au soleil (Braegger et al., 2013). Par ailleurs, on sait que la couverture des besoins en vitamine D est difficile à atteindre par l'alimentation (Maillot et al., 2009). En effet, il s'agit d'une vitamine présente dans peu d'aliments vecteurs (poissons gras). Face à ce constat, des essais de supplémentation ont été conduits chez des populations d'enfants et d'adultes obèses avec des résultats prometteurs qui doivent être confirmés. La littérature a rapporté l'efficacité d'une supplémentation en VD pour normaliser le statut en 25(OH)D chez des adolescents obèses avec un taux de 25(OH)D inférieur à 75nmol/L à l'inclusion (Javed et al., 2016), alors que des effets prometteurs d'une supplémentation sur le tissu adipeux, le système cardiovasculaire et même la performance physique ont été démontrés chez les adultes obèses (Carrillo et al., 2013; Raed et al., 2017; Rosenblum et al., 2012). Dans le cadre d'une prise en charge nutritionnelle combinant régime alimentaire et activité physique chez l'adolescent obèse, nous avons fait l'hypothèse que la vitamine D pourrait améliorer les effets métaboliques et vasculaires de cette prise en charge. Nous avons également souhaité évaluer les effets plus durables d'une modalité de réentraînement à l'effort ludique et variée (à base d'exercices intermittents courts et intenses HIIT/ MCT) susceptible de conditionner l'adhésion à l'activité physique à court et moyen terme.

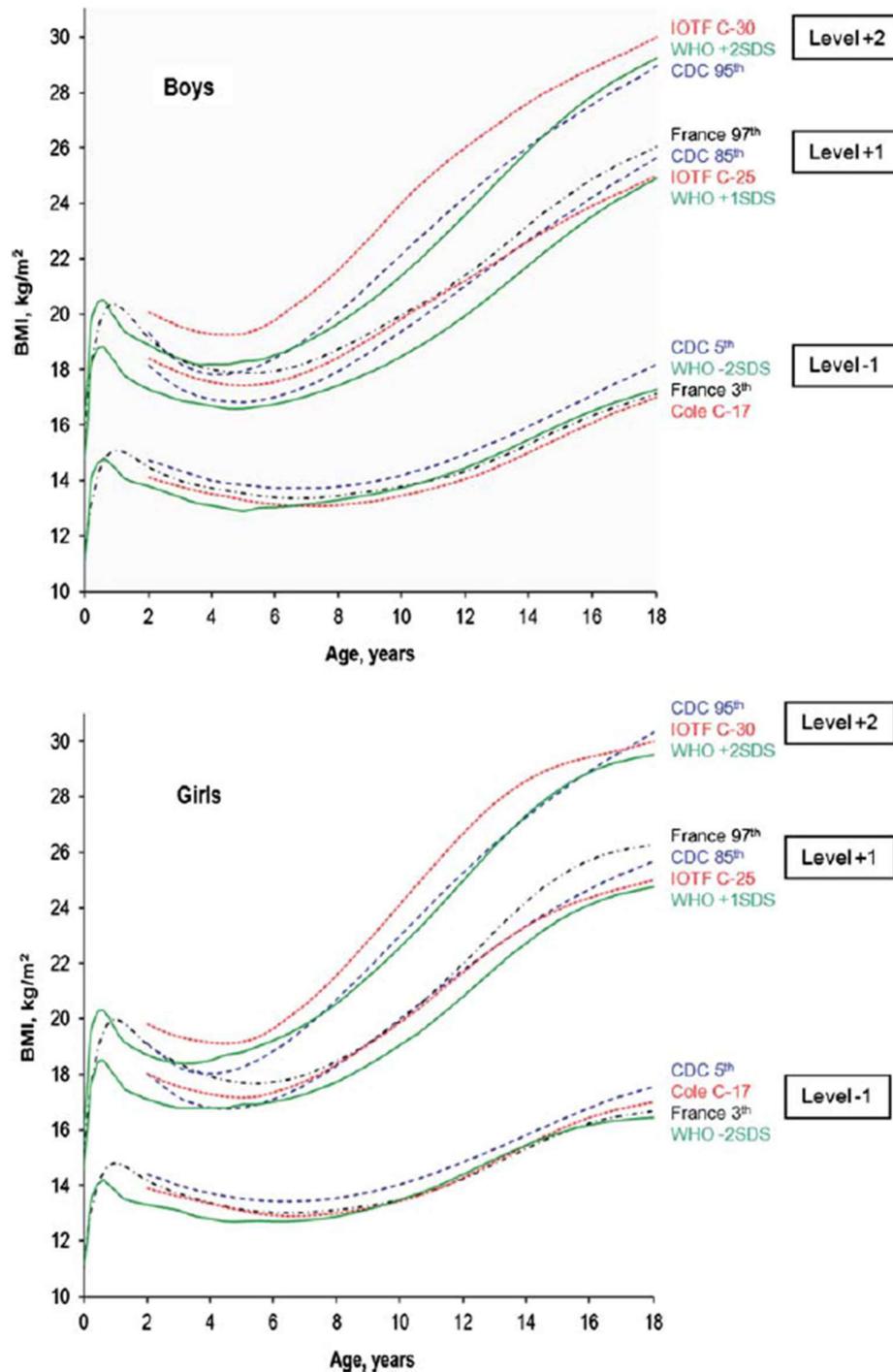
Ainsi, en vue d'améliorer les stratégies de prise en charge chez les adolescents obèses, mes travaux de thèse tentent de répondre aux deux questions suivantes : quels seraient les effets d'une modalité d'activité physique de type HIIT et quels seraient les effets d'une supplémentation quotidienne en vitamine D pendant 3 mois associée à une prise en charge nutritionnelle.

# **REVUE DE LITTERATURE**

# 1. L'obésité de l'enfant et de l'adolescent

## 1.1 Définition

Le surpoids et l'obésité sont définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle secondaire à un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports et les dépenses caloriques, et pouvant nuire à la santé. L'indice de masse corporelle (IMC : poids (kg) / taille<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) qui reflète plus la corpulence que l'adiposité est utilisé pour définir l'obésité ( $\geq 30\text{kg/m}^2$ ) et le surpoids ( $\geq 25\text{kg/m}^2$ ) chez les adultes indépendamment de l'âge et du genre. Chez les enfants dont le statut pondéral subit des variations importantes selon l'âge et le sexe pendant la phase de croissance, l'obésité est définie, selon les recommandations françaises, par un IMC supérieur au 97<sup>e</sup> percentile au regard de la courbe de référence de Rolland-Cachera (Rolland-Cachera, 2011) (*Figure 1*).



**Figure 1.** Courbes d'IMC provenant de diverses références et normes.

Centiles du groupe international de travail sur l'obésité (IOTF) et de Cole TJ (2011) ; Scores de déviations standard (SDS) de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2006) (0–5 ans) et WHO (2007) (5–19 ans) ; centiles des centres nationaux des statistiques de santé américain (CDC, 2000) et français (1991). IOTF C-25 et IOTF C-30 correspondent aux centiles des IMC à 25 et 30 des personnes âgées de 18 ans ; Cole C-17 fait référence aux centiles des IMC à 17 chez les personnes âgées de 18 ans.

On considère que l'obésité chez les enfants est dite sévère lorsque les valeurs de référence de la courbe seuil de l'International Obesity Task Force (IOTF) se situent au-dessus de 120 % de l'IMC 30, et morbide au-dessus de la courbe à 140 % de l'IMC 30 (Flegal et al., 2009; Skinner and Skelton, 2014). Ces seuils établis à partir du suivi prospectif des obésités de l'enfant correspondent par ailleurs et à peu de chose près, aux IMC 35 et 40 à l'âge de 18 ans. Afin d'être indépendant de l'âge et du sexe, l'IMC peut être transformé, à partir des valeurs de référence, en écart réduit à la moyenne (ou Z-score) ou en rang de centile. Le Z-score d'IMC permet d'obtenir une indication chiffrée de la déviation par rapport à la médiane de la population de référence, et qui prend en compte le sexe et l'âge (méthode *Least Mean Square*) (Rolland-Cachera 2011; Must et Anderson 2006). Les analyses de Z-score d'IMC peuvent ensuite être rapportées en unités percentile d'IMC pour permettre une comparaison avec les tables de distribution normale de population par âge, et faciliter l'interprétation (McCarthy et al., 2006). Les Z-score d'IMC présentent également un intérêt lorsqu'il s'agit de comparer les moyennes de groupes différents, tout en relativisant les trajectoires de poids (Must and Anderson, 2006a). Selon la littérature, les enfants et adolescents qui présentent un Z-score d'IMC compris entre 2 et 3 sont considérés en obésité modérée, et l'obésité sévère est avérée pour un Z-score d'IMC supérieur à 3 (Zimmet et al., 2007).

Si l'IMC évalue la corpulence, il ne permet pas de connaître avec suffisamment de précision la composition corporelle. Or, il est important de définir non seulement l'importance de l'excès de masse grasse mais également sa répartition. En effet, il est maintenant bien établi que cette répartition conditionne le caractère plus ou moins délétère de l'excès pondéral. Ainsi, l'adiposité abdominale, et plus particulièrement périviscérale, s'accompagne d'une augmentation du risque cardio-vasculaire global mais également du risque métabolique avec une plus grande prévalence de diabète (Després, 2001; Reeder et al., 1997). De façon

préoccupante, l'adiposité abdominale est de plus en plus fréquente chez les enfants (Maffeis et al., 2008; Silveira et al., 2013).

## **1.2 Données épidémiologiques**

L'épidémie d'obésité infantile inquiète par le fait qu'elle peut être associée à des désordres tels que le diabète, une dyslipidémie et l'hypertension qui contribuent de façon importante à générer un état général pro athérogène et donc développer des maladies cardiovasculaires (Mathieu et al., 2009) . Dans son rapport de 2012, l'OMS estimait à 170 millions le nombre des enfants de moins de 18 ans présentant un excédent pondéral (Lobstein et al., 2015). Dans un rapport plus récent, l'OMS (2015) estimait que le nombre d'enfants de moins de 5 ans touchés par le surpoids ou l'obésité avait atteint plus de 41 millions d'enfants. De façon préoccupante, jusqu'à deux tiers des enfants obèses de plus de 6 ans risquent d'être obèses à l'âge adulte. Ainsi, la probabilité qu'un enfant obèse demeure obèse à l'âge adulte est de 20 à 50% avant la puberté et de 50 à 70% après la puberté (Whitaker et al., 1997). Les enfants obèses sont susceptibles de développer des maladies comme le diabète et les maladies cardiovasculaires à un âge plus jeune (Burns et al., 2014; Koskinen et al., 2017). Aussi, les nombreuses complications et comorbidités associées à l'obésité pourraient-elles être évitées par une prise en charge précoce de cette pathologie multifactorielle.

L'étude INCA 3 (Étude individuelle nationale des consommations alimentaires 3) réalisée en 2014-2015 a actualisé les données de consommation et d'habitudes alimentaires pour un échantillon représentatif de la population française. Les données recueillies ont notamment porté sur la consommation et les habitudes alimentaires, sur l'activité physique et la sédentarité et sur les caractéristiques anthropométriques. Ainsi, dans la population des enfants de 0 à 17

ans (n= 2 697), 11% [10%-13%] sont en situation de maigreur, 13% [11%-15%] sont en surpoids et 4,0% [3,1%-5,1%] sont obèses. Plus spécifiquement, chez les adolescents de 15 à 17 ans, 14.7% sont en surpoids et 5.5% sont obèses, sans différence garçons-filles. Par rapport aux données de l'étude INCA 2 (2006-2007), la prévalence du surpoids et de l'obésité est relativement stable chez les enfants de 3 à 14 ans. En revanche, la prévalence du surpoids chez les adolescents de 15 à 17 ans a augmenté, passant de 9 à 15%.

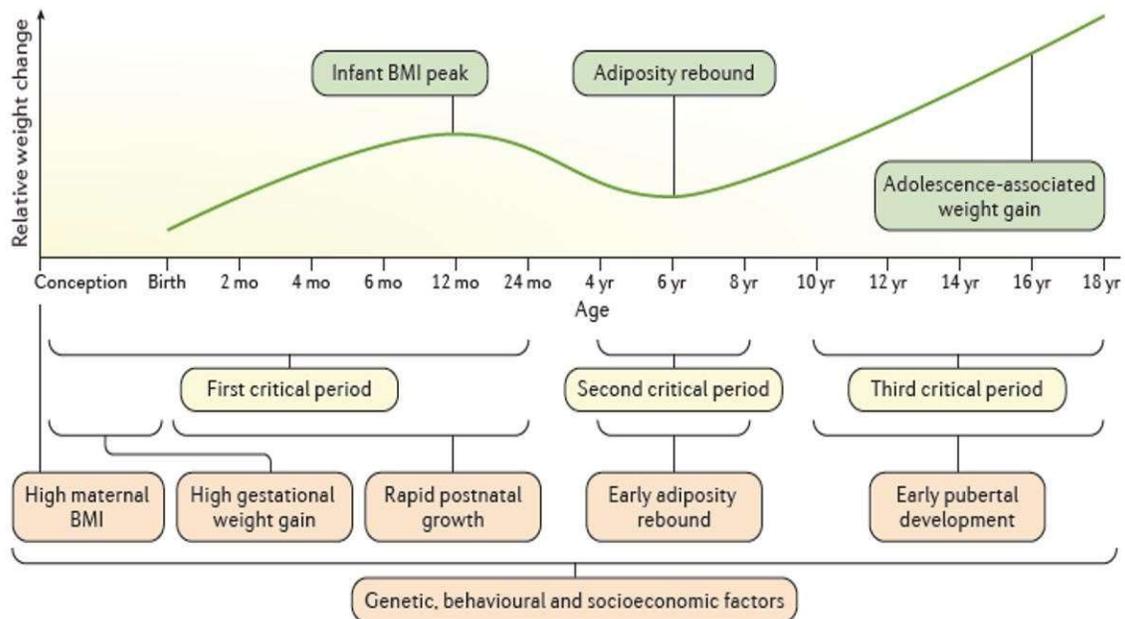
## **1.3 Physiopathologie de l'obésité, ses déterminants et ses complications**

### **1.3.1 Physiopathologie**

Dans des circonstances normales, la masse grasse de chaque individu est étroitement régulée. En effet, il existe un ajustement des dépenses et des apports énergétiques permettant de maintenir la masse corporelle à un niveau stable appelé « set point » (Keesey and Hirvonen, 1997). L'obésité est caractérisée par une augmentation des stocks de tissu adipeux, secondaire à un déséquilibre de la balance énergétique (Björntorp, 1997). Lors de la phase de constitution de l'obésité, dite phase dynamique, le bilan énergétique est positif, entraînant une accumulation de graisse en relation avec l'excès calorique. Un déséquilibre, même minime (1 à 2%) entre les apports et les dépenses suffit à déclencher ce phénomène (Spiegelman and Flier, 2001). Lorsque le bilan énergétique redevient équilibré, mais avec un « set point » supérieur, la prise de poids est stoppée : c'est la phase statique de l'obésité (Basdevant et al., 2002). La succession

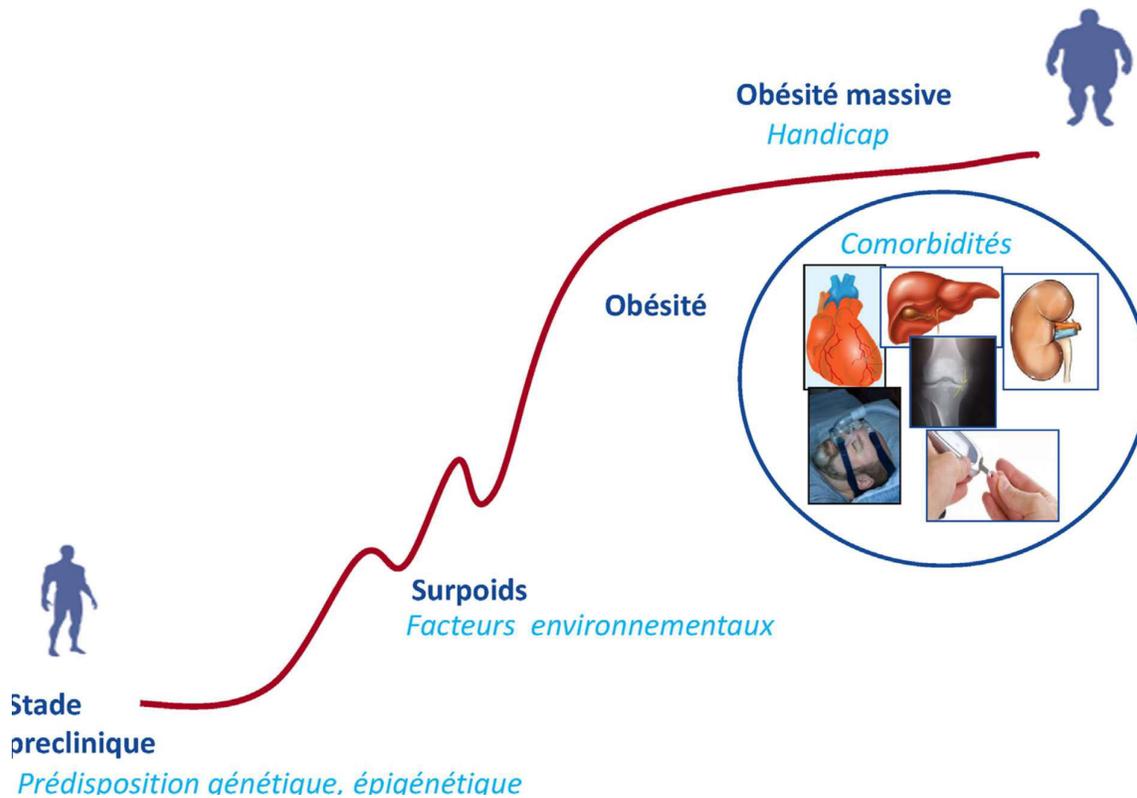
inappropriée de régimes et de variations pondérales transitoires peut jouer un rôle défavorable en réduisant les dépenses énergétiques (Leibel et al., 1995).

Au cours de l'enfance, certaines périodes critiques sont décrites dans le développement de l'obésité (Figure 2). L'origine de la prise de poids chez les enfants obèses se fait par multiplication du nombre d'adipocytes, on parle d'obésité hyperplasique. La multiplication des cellules graisseuses se fait dès les premiers mois de la vie et continue jusqu'à la fin de la puberté. Durant cette période, des apports alimentaires en excès provoquent une stimulation hormonale (leptine) et ainsi une augmentation importante du nombre d'adipocytes. Par contre, à l'âge adulte, la prise de poids est caractérisée par une augmentation du volume des adipocytes, on parle d'obésité hypertrophique (Ziegler et al., 2000).



**Figure 2.** Périodes critiques du développement de l'obésité (González-Muniesa et al., 2017)

L'étiologie de l'obésité ainsi que ses phénotypes sont liés à l'évolution de facteurs d'ordre anthropométrique et clinique, biologique, ainsi que psycho-social (Figure 3). La contribution respective de ces facteurs reste à définir de façon précise. Les facteurs génétiques de l'obésité associés à des facteurs environnementaux tels que l'offre alimentaire et les incitations et une réduction importante d'activité physique, vont conduire à une balance énergétique défavorable et la prise de poids. L'étiologie de la maladie de l'obésité est associée à de multiples complications métaboliques susceptibles de conduire au développement du syndrome métabolique. Hormis l'adiposité, les facteurs du syndrome métabolique désignent la dyslipidémie, l'insulino-résistance, et des anomalies du métabolisme glucidique.



**Figure 3.** Histoire naturelle de l'obésité. (Faucher and Poitou, 2016).

### 1.3.2 Les déterminants

L'obésité est une pathologie chronique, complexe et hétérogène dont les déterminants psychopathologiques et socioculturels jouent un rôle au même titre que les facteurs environnementaux et génétiques (Faucher and Poitou, 2016; Sheikh et al., 2017).

#### 1.3.2.1 *Génétique et obésité*

Le facteur génétique joue un rôle non négligeable dans l'étiologie de l'obésité, en interaction importante avec l'environnement (Faucher and Poitou, 2016). Ainsi plus de 250 gènes impliqués dans la prise de poids, l'obésité sévère et/ou les complications de l'obésité ont été identifiés (Rankinen and Bouchard, 2006) mais leur effet individuel reste modeste. La prédisposition génétique (Sheikh et al., 2017) à la prise de poids est susceptible d'expliquer les différences inter-individuelles chez les personnes souffrant d'obésité. 20% de gènes dits « obésogènes » ont été identifiés chez l'homme (Milagro et al., 2013).

#### 1.3.2.2 *Excès d'apports énergétiques et déséquilibre de la balance énergétique*

La perte de l'équilibre alimentaire peut être d'ordre quantitatif (taille des portions) ou (et) qualitatif, tel que la diminution de l'apport de glucides complexes (féculents, fibres), au profit d'aliments à l'index glycémique élevé et aux lipides ; le tout aggravé par la perturbation des rythmes alimentaires (notamment le grignotage à toute heure). Le rapport à l'alimentation est donc un enjeu fondamental dans le traitement de l'obésité des enfants et des adolescents. Ce rapport est étroitement lié aux stimuli sensoriels et psychologiques, dont les émotions et l'affect

qui lui sont associés. Enfin, la balance énergétique des personnes obèses peut être perturbée par différentes dysrégulations de sécrétion ou de signalisation qui touchent essentiellement le tube digestif (Quarta et al., 2017), le pancréas notamment via l'action de l'insuline (Roberts et al., 2014), et les tissus adipeux où la leptine joue un rôle central (Ramos-Lobo and Donato, 2017). Ces évènements sont susceptibles d'interagir ensemble au niveau du système nerveux central, et notamment par l'intermédiaire de l'hypothalamus qui agit comme un régulateur de la prise alimentaire et la dépense énergétique (Carmo-Silva and Cavadas, 2017). Toutefois, ces facteurs participant au déséquilibre énergétique n'expliquent pas à eux seuls la prévalence de l'obésité ou les trajectoires individuelles de la prise de poids pour des individus qui ont le même mode de vie.

### *1.3.2.3 Sédentarité et inactivité physique*

L'inactivité physique se définit comme un niveau insuffisant d'activité physique, c'est-à-dire n'atteignant pas le seuil recommandé par les sociétés savantes. La sédentarité se définit comme une situation d'éveil caractérisée par une dépense énergétique inférieure à 1,5 équivalents métaboliques (METs) en position assise ou allongée. Différentes études ont établi un lien fort entre la diminution de la dépense énergétique des individus et la prévalence de l'obésité (Hill et al., 2003; Prentice and Jebb, 2004). La relation entre la sédentarité et l'obésité des jeunes a fait l'objet d'une revue de Must et Tybor (Must and Tybor, 2005) qui conclut à partir d'études prospectives, que l'augmentation de l'activité physique et la réduction des comportements sédentaires sont associées à une plus grande protection vis-à-vis de la prise de poids chez l'enfant et l'adolescent. Comme cela a été discuté dans le rapport d'expertise collective INSERM sur l'activité physique « Contexte et effets sur la santé » en 2008, plusieurs études transversales et longitudinales discutent du lien entre sédentarité et masse grasse, en

confirmant la relation entre la sédentarité et l'obésité chez les jeunes (Must and Anderson, 2006b; Wareham et al., 2005). Le rapport INCA 3 (2017) rapporte ainsi que seul 1/3 des adolescents entre 11 et 17 ans pratiquent au moins 60 minutes par jour d'activités physiques, la moitié des adolescents entre 11 et 14 ans et 2/3 des adolescents entre 15 et 17 ans passent plus de 3h par jour devant les écrans et enfin 1/3 des enfants présentent un comportement associant inactivité physique et sédentarité. On peut désormais s'interroger sur le sens de la relation entre AP et obésité. Est-ce la diminution de pratique d'AP qui développe l'obésité ou est-ce l'obésité qui conduit à moins de pratique d'AP ? Il s'agit probablement d'un « cercle vicieux ». Le contexte nutritionnel et l'environnement sont indissociables de cette discussion.

#### *1.3.2.4 Environnement social et économique*

Au-delà des facteurs d'inactivité physique et de comportements de sédentarité, l'effet d'un faible statut socio-économique participe d'un environnement obésogène (Villagran Pérez et al., 2013) (De Saint Pol Thibault, 2007). En France, le programme national nutrition santé (PNNS) 2011-2015 soulignait l'effet du revenu dans de nombreux aspects de la consommation alimentaire, en se fixant pour objectif prioritaire de lutter contre les inégalités sociales. Cet axe a été repris en intégralité dans le plan d'action européen pour le traitement de l'Obésité infantile (2014-2020).

### 1.3.3 Les complications

#### 1.3.3.1 Les complications métaboliques

L'obésité infantile est souvent associée à une dyslipidémie dans laquelle les triglycérides plasmatiques (TG) sont augmentés, les concentrations de HDL cholestérol sont diminuées et celles des lipoprotéines de basse densité (LDL) augmentées (Akinçi et al., 2008 ; Güven and Sanisoglu, 2008). Or selon les recommandations de l'«American Heart Association» chez les enfants ayant plus de deux ans, le cholestérol quel que soit le sexe devrait être inférieur à 170 mg/dL (valeur élevée considérée : 200 mg/dL) ; le LDL-cholestérol inférieur 110 mg/dL (valeur élevée considérée : 130 mg/dL) ; le HDL-cholestérol supérieur à 35 mg/dL) ; et les TG inférieurs à 150 mg/dL) (Kavey et al., 2003; Mellerio et al., 2012). La surveillance du profil lipidique chez les enfants obèses est d'autant plus importante que les concentrations élevées de lipides (Total cholestérol, TG, LDL) observées chez les enfants obèses ont tendance à se maintenir à l'âge adulte, augmentant ainsi le risque de maladies cardiovasculaires et de mortalité à l'âge adulte (Joshi et al., 2014).

La littérature a rapporté l'existence d'un cycle « glucose-acides gras » également nommé « cycle de Randle (Randle et al., 1963) selon lequel l'augmentation de la concentration des acides gras libres (AGL) dans le milieu conduit à une réduction du captage et de l'utilisation du glucose. Ce phénomène est à l'origine d'une lipotoxicité et d'une inhibition de la sécrétion d'insuline tel que rapporté par les études (Delarue and Magnan, 2007; McGarry and Dobbins, 1999)

Des études chez l'homme ont clairement démontré que les AGL inhibent directement le transport du glucose et la phosphorylation dans le muscle squelettique, principalement responsable de l'élimination du glucose dans des conditions stimulées par l'insuline et de

l'absorption insuffisante du glucose dans des états résistant à l'insuline tels que l'obésité et le diabète de type 2. Ces résultats indiquent également un rôle important de la nutrition, en particulier une consommation accrue de lipides et des AGL, dans la pathogenèse de la résistance à l'insuline.

L'insulino-résistance se définit par une diminution de l'action biologique de l'insuline exogène ou endogène sur ses tissus cibles notamment le muscle. Au niveau musculaire, cette insulino-résistance aboutit à un défaut de captation, d'utilisation et de stockage du glucose. Ce défaut d'action hormonale s'accompagne généralement d'un hyperinsulinisme compensatoire. Les effets délétères de l'obésité sur le métabolisme glucidique apparaissent de façon précoce pendant la période de l'enfance. La littérature rapporte en effet une prévalence de l'hyperinsulinémie chez les enfants obèses avec une réponse à la stimulation du métabolisme glucidique à l'insuline inférieure aux enfants non obèses (Caprio et al., 1996; Chiarelli and Marcovecchio, 2008). La prévalence du diabète de type 2 est en augmentation chez l'enfant et l'adolescent (Czernichow and Tubiana-Rufi, 2004). Selon les projections pour 2020, le diabète de type 2 pourrait augmenter de 50% chez l'enfant (Pinhas-Hamiel and Zeitler, 2005).

Les méthodes de référence servant à déterminer la sensibilité à l'insuline chez l'adulte comme chez l'enfant obèse sont : 1) le clamp euglycémique hyperinsulinémique, (qui consiste à perfuser du glucose de façon à maintenir la glycémie du sujet 5,5 mmol/l au-dessus de sa glycémie basale) qui permet d'évaluer dans un même test, la sécrétion et la sensibilité à l'insuline, et 2) l'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO). Cependant, ces méthodes chronophages (2 à 3 heures) sont peu applicables en routine clinique (Van Der Aa et al., 2017). Pour définir l'insulino-résistance chez les enfants et les adolescents obèses, les tests proposés doivent être les moins invasifs et contraignants possible afin d'être largement applicables. Par conséquent, d'autres marqueurs issus de méthodes basées sur des échantillons sanguins à jeun,

ont été proposés dans les populations pédiatriques. Ces techniques plus simples permettent le calcul d'indices indirects de la sensibilité à l'insuline, à partir des valeurs de base de la glycémie (Gb) et de l'insuline plasmatique (Ib). Ces modèles ciblent plus particulièrement les indices d'HOMA-IR (pour homeostasis model assessment of insulin resistance) (Song et al., 2007a), de QUICKI (Katz et al., 2000) ainsi que le rapport glucose/insuline, qui présentent des corrélations modérées à fortes avec l'insulino-résistance évaluée avec le clamp euglycémique-hyperinsulinémique (Van Der Aa et al., 2017; Brandou et al., 2005a). L'index HOMA est un modèle mathématique basé sur les réponses quantitatives des principaux organes impliqués dans l'homéostasie du glucose développé par l'équipe de Turner et al. ; (Matthews et al., 1985a). A partir de ce modèle, l'indice HOMA-IR (fasting insulin ( $\mu\text{IU/mL}$ ) x fasting glycemia ( $\text{mmol.L}^{-1}$ ) / 22.5) qui évalue la sensibilité à l'insuline s'est répandu en routine clinique (Song et al., 2007b), tout comme l'indice QUICKI qui constitue un indice quantitatif de contrôle de la sensibilité à l'insuline, et le rapport glycémie (mg/dl) / insuline (UI/ml) à jeun. L'indice HOMA-IR semble plus fiable que le rapport glucose/insuline ou le modèle QUICKI pour évaluer la résistance à l'insuline chez les enfants et adolescents obèses (Keskin et al., 2005). Si la valeur seuil de l'HOMA-IR chez l'adulte est définie à partir de 2,15 (Matthews et al., 1985b) ; il n'existe toujours pas de consensus de valeurs chez les enfants et les adolescents obèses. Certains auteurs ont proposé des valeurs seuil de l'HOMA-IR à 3,16 (Keskin et al., 2005) alors que d'autres ont proposé une valeur seuil supérieure ou égale à 4 (Reinehr and Andler, 2004).

Cependant, et bien que certaines études rapportent un lien de corrélation satisfaisant entre les indices d'HOMA-IR et les valeurs de références pour l'évaluation de l'insulino-résistance, il a clairement été établi que la boucle de rétroaction entre l'action de l'insuline et la libération d'insuline, est nettement modifiée au cours de la puberté, pour des raisons physiologiques qui demeurent largement inconnues (Brandou et al., 2005a). L'obésité et la puberté sont des facteurs importants dans le développement de l'insulino-résistance chez les

enfants obèses, également influencée par le sexe (Codoñer-Franch et al., 2010; Kurtoğlu et al., 2010) ; il semble qu'une période transitoire avec une phase d'hypersinsulinémie chez les enfants précède le déclin de la sensibilité à l'insuline (Le Stunff and Bougnères, 1994). L'utilisation d'indices reposant sur les niveaux d'insuline de base peut donc poser problème et impliquer des cas de faux positifs dans le diagnostic de la résistance à l'insuline. Si les marqueurs tels que l'HOMA-IR sont très applicables en routine clinique, il convient donc d'être prudent dans l'interprétation des résultats obtenus par des marqueurs tels que l'HOMA-IR durant la puberté (Brandou et al., 2005a).

L'obésité, et plus particulièrement l'excès d'adiposité abdominale, est souvent associée à un ensemble de désordres métaboliques regroupés dans une entité clinico-biologique appelée syndrome métabolique, également appelé syndrome X (Kim and Reaven, 2004). Ce syndrome englobe des facteurs de risque cardiovasculaire qui associent au moins 3 des 5 facteurs l'adiposité abdominale, l'hyperglycémie, l'hypertension, ainsi que la dyslipidémie.

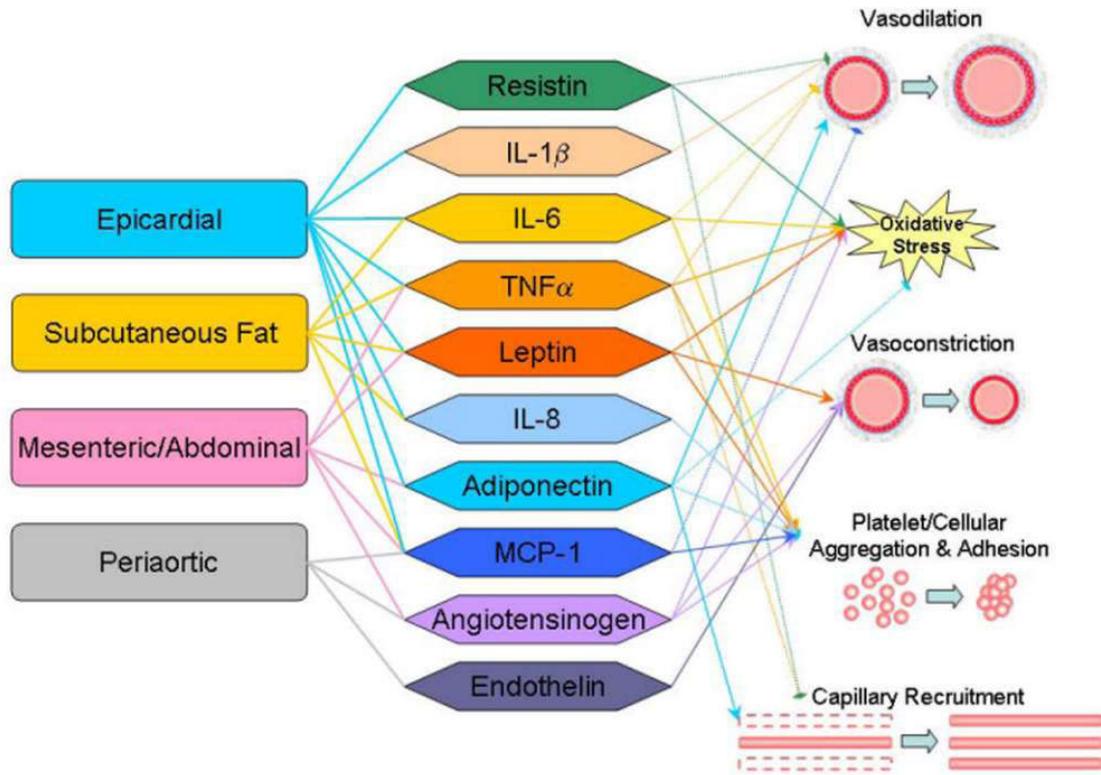
Alors qu'une définition incluant des valeurs de seuils spécifiques liées au genre et à l'ethnie peut convenir à la population adulte à risque, une telle transposition avec les populations jeunes (enfants et adolescents) est problématique. En effet, différents paramètres tels que la tension artérielle, les niveaux de lipides ou les variables anthropométriques changent avec l'âge et le développement pubertaire. Par conséquent, des valeurs au-dessus du 90ème, 95ème ou 97ème centile pour le sexe et l'âge sont plutôt utilisées chez l'enfant.

À partir de l'âge de 10 ans et plus, un diagnostic de syndrome métabolique peut être réalisé ; celui-ci est conditionné par la co-présence d'une obésité abdominale et d'au moins deux autres composants (triglycérides élevés, lipoprotéines de basse densité (HDL)-cholestérol, hypertension et glycémie élevée). Selon un rapport de la fédération internationale du diabète (IDF), les critères IDF adultes (Alberti et al., 2006) peuvent être utilisés pour les adolescents

âgés de 16 ans, alors qu'une version modifiée de ces critères sera appliquée aux jeunes dont l'âge est compris 10 ans à 16 ans (utilisation du 90ème percentile pour la taille, et 40 mg / dL de HDL pour les deux sexes) (Zimmet et al., 2007). Les multiples définitions du syndrome métabolique chez l'enfant expliquent les niveaux de prévalence très disparate selon les études : de 30 à 72% (Reinehr et al., 2016).

### **L'inflammation et le stress oxydant, deux facteurs associés au syndrome métabolique.**

De nombreuses études précliniques et cliniques ont établi le lien entre l'obésité, l'insulino-résistance et l'inflammation (Gregor and Hotamisligil, 2011; Lumeng and Saltiel, 2011). L'obésité est un état d'inflammation chronique à bas bruit. L'expansion du tissu adipeux est en effet caractérisée par l'augmentation de l'infiltration des macrophages. Il se produit un déséquilibre de la production des cytokines par le tissu adipeux, avec la diminution des facteurs anti-inflammatoires (tels que l'adiponectine et IL-10) et l'augmentation des facteurs pro-inflammatoires (tels que TNF- $\alpha$ , IL-6, leptine) (Weisberg et al., 2003; Xu et al., 2003). Ces facteurs tels que TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et MCP-1 peuvent facilement accéder le système vasculaire (Stapleton et al., 2008).



**Figure 4.** Sécrétion d'adipokines par les différents compartiments de tissus adipeux et leurs impacts sur la fonction vasculaire

Les tissus adipeux de la cavité viscérale et de la partie supérieure du corps sont accessibles facilement au système vasculaire. Les flèches en pointe sont les effets potentialisateurs et les flèches en trait sont les effets inhibiteurs. D'après Stapleton et al 2008 Pathophysiology.

Les enfants souffrant d'obésité sévère, présentent un niveau d'inflammation de bas grade associé à des facteurs de risque cardiovasculaire élevés (Kapiotis et al., 2006; Singh et al., 2015a) dès le jeune âge. La littérature rapporte également qu'un grand nombre des paramètres pro-inflammatoires et pro-athérogéniques qui sont associés aux maladies vasculaires, ont été observés chez les enfants obèses (Montero et al., 2012a). Différents marqueurs tels que la leptine, l'interleuline-6 (IL-6), la protéine réactive C (CRP), le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF-α), le fibrinogène, les molécules d'adhésion vasculaire, la

diminution des niveaux d'adiponectine, témoignent d'un statut inflammatoire élevé chez les jeunes sujets souffrant d'obésité (Giordano et al., 2011).

**Tumor necrosis factor- $\alpha$**  : TNF- $\alpha$  est une importante cytokine impliquée dans l'inflammation systémique et dans la réaction de phase aiguë. Le TNF- $\alpha$  est surexprimé dans le tissu adipeux de patients obèses, et considéré comme un paramètre clinique de l'inflammation systémique. La littérature a également mis en évidence une valeur élevée de TNF- $\alpha$  chez les adolescents obèses (Singh et al., 2017). Par ailleurs, il a été mis en évidence que TNF- $\alpha$  est impliqué dans l'altération de la voie de l'insuline et provoque la résistance à l'insuline en augmentant la lipolyse des adipocytes, stimulant les voies JNK et NF- $\kappa$ B liés aux effets pro-inflammatoires (Chen et al., 2015; Maury et al., 2009). Il a été montré, chez la souris diabétique, que le TNF- $\alpha$  participe à la dysfonction endothéliale en diminuant la libération de NO par les cellules endothéliales et augmentant la production de ROS (Kirchgessner et al., 1997). En outre, TNF- $\alpha$  va entraîner l'inhibition de l'expression du gène de la NOSynthase conduisant à une moindre production de NO (Viridis et al., 2018).

**IL-6 et CRP** : L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire produite par plusieurs types cellulaires (fibroblaste, cellule endothéliale, monocyte, adipocyte). La production d'IL-6 par le tissu adipeux est augmentée en situation d'obésité (Bastard et al., 2002). IL-6 contrôle la production de CRP (C-reactive protein ou protéine C-réactive) au niveau hépatique, qui est aussi reconnu comme un marqueur important du risque cardiovasculaire. IL-6 joue un rôle central dans l'association entre l'obésité, l'inflammation et des maladies cardiovasculaires (Bastard et al., 2006; Mathieu et al., 2009).

La CRP est une protéine synthétisée par le foie en réponse à des facteurs sécrétés par les macrophages et les adipocytes, y compris l'IL-6. Il a été montré une association entre la

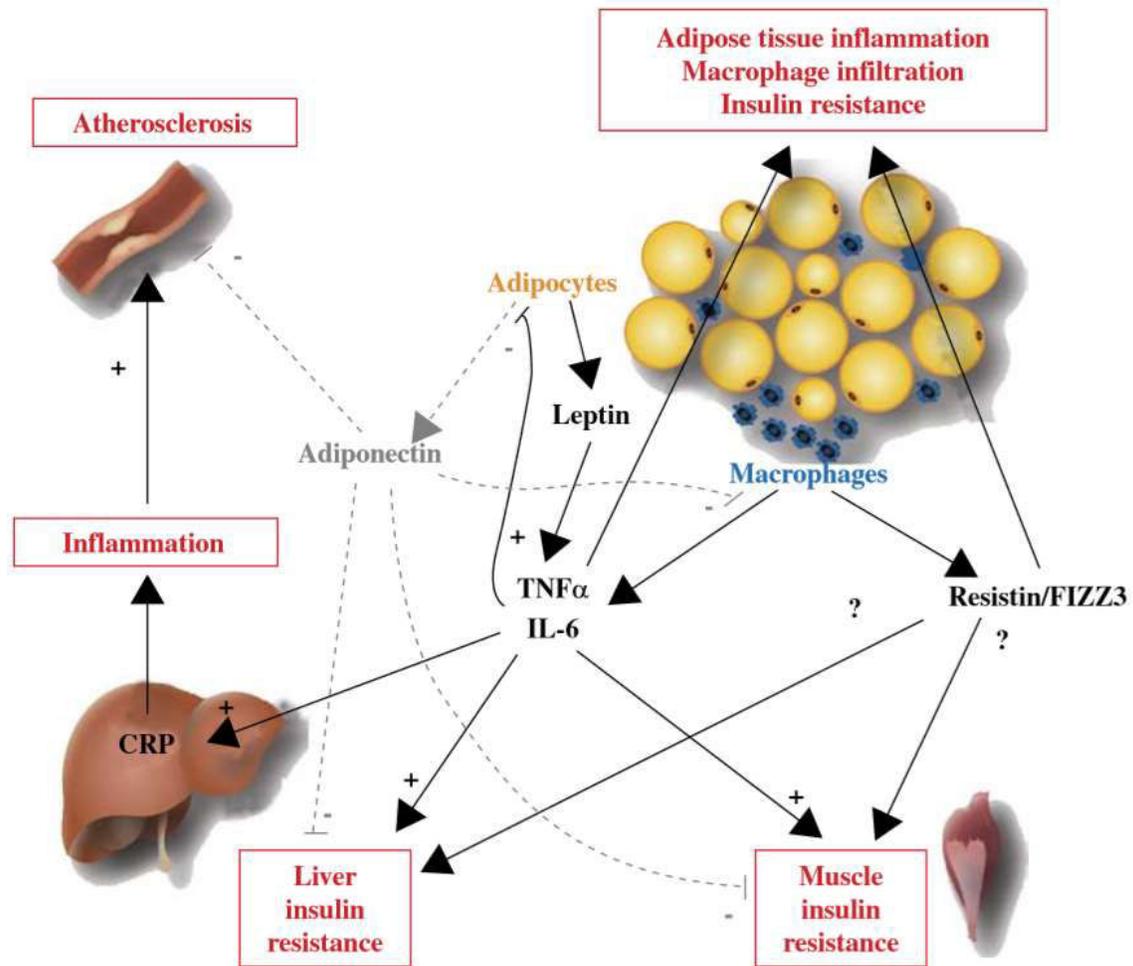
circonférence de la taille et les niveaux de CRP. La CRP est le marqueur de l'inflammation systémique le mieux caractérisé et bien standardisé, de nombreuses études soutiennent l'hypothèse selon laquelle la CRP contribue à augmenter le risque cardiovasculaire. La littérature a ainsi établi le lien entre la CRP et l'inflammation chronique dans l'athérosclérose. Les études qui se sont intéressées à la résistance à l'insuline et l'athérosclérose, ont montré que la CRP était étroitement associée à l'adiposité centrale et à la résistance à l'insuline, ainsi qu'à la pression artérielle, au cholestérol LDL et aux TG. La CRP contribue aussi à la dysfonction endothéliale (Pasceri et al., 2000). En effet, l'exposition des cellules endothéliales à la CRP diminue la production de NO et la régulation de l'expression de la NOSynthase par une moindre stabilité de l'ARN (acide ribonucléique) messenger de la NOSynthase. Bien que les résultats cliniques soulignent la relation entre les niveaux de CRP et diverses caractéristiques du syndrome métabolique, des études expérimentales visant à clarifier les sites spécifiques et les modes moléculaires de l'action de la CRP in vivo sont toujours nécessaires (Roberts et al., 2013).

***La leptine*** : La leptine produit du gène ob, est impliquée dans la régulation neuroendocrine de la satiété et la dépense énergétique. Elle participe au métabolisme avec différents effets : stimulation de la lipolyse, inhibition de la lipogenèse, amélioration de la sensibilité à l'insuline, augmentation du métabolisme du glucose et stimulation de l'oxydation des acides gras. Une partie de ces effets passe par la régulation de l'axe hypothalamus-hypophyse-surrénales. De plus, la leptine augmente la production des espèces oxygénées réactives qui génèrent un stress oxydatif au niveau des cellules endothéliales (Bouloumie et al., 1999). Elle stimule la sécrétion de cytokines proinflammatoires tels que le TNF $\alpha$  et l'IL-6, qui favorisent une hypertension artérielle et une dysfonction endothéliale (Bulló et al., 2003). Dans l'obésité, il y a une résistance à la leptine au niveau de l'hypothalamus ce qui conduit à une inhibition de la signalisation de la leptine (Ozcan et al., 2009). Cette inhibition entraîne une diminution de la

dépense énergétique associée à une augmentation de la prise de poids et l'accumulation de lipides (Rosenbaum et al., 2008).

***Adiponectine*** : L'adiponectine est la protéine la plus abondante sécrétée par le tissu adipeux. Chez les rongeurs, l'administration d'adiponectine recombinante ou une surexpression génétique conduit à une amélioration de la sensibilité à l'insuline et à une oxydation accrue des acides gras dans le foie et les muscles squelettiques ; alors que la suppression génétique a été associée à une intolérance au glucose et à une résistance à l'insuline. Une autre action importante de l'adiponectine est liée à ses effets anti-inflammatoires. L'adiponectine est en outre capable d'inhiber la signalisation du récepteur NF-Kb. Par ces actions sur l'endothélium, et l'amélioration du métabolisme au niveau des tissus périphériques, l'adiponectine joue un rôle protecteur contre l'athérosclérose (Roberts et al., 2013).

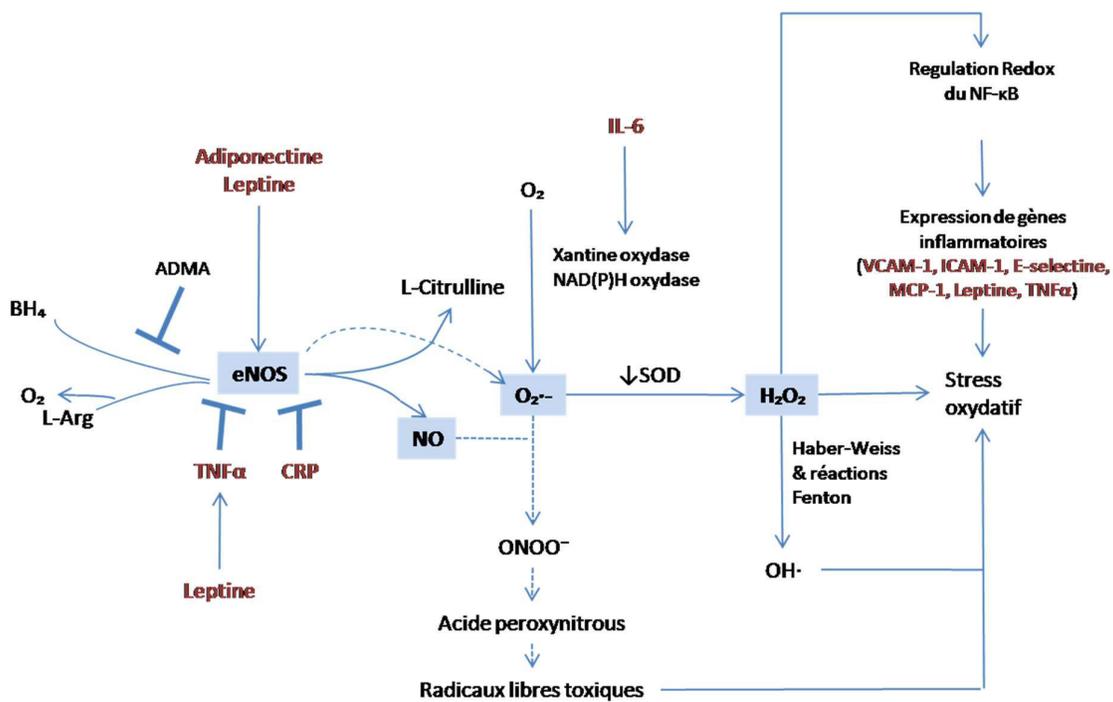
Cet état métabolique inflammatoire chronique lié à l'obésité participe au développement d'une insulino-résistance systémique (Figure 5).



**Figure 5.** Lien entre l'expression et la sécrétion des adipokines par le tissu adipeux et l'insulino-résistance chez des sujets obèses (Bastard, 2006).

Le stress oxydant est considéré comme un déséquilibre entre les concentrations d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les mécanismes de défense oxydative. L'inflammation systémique contribue elle-même à une majoration du stress oxydatif. L'obésité sévère infantile est associée à une augmentation des marqueurs de stress oxydant évalués par le malondialdéhyde (MDA) et des activités enzymatiques oxydatives, telles que la myéloperoxydase ou la superoxyde dismutase (SOD) et les F2-isoprastanes, et des produits de l'oxydation avancée des protéines (Codoñer-Franch et al., 2012a; Keane et al., 2003) (Keane

et al. 2003 ; Pilar Codoñer-Franch et al. 2012). L'augmentation des niveaux de stress oxydant va induire des effets métaboliques délétères au niveau de la régulation des adypokines telles que la leptine et l'adiponectine, ainsi qu'au niveau du statut inflammatoire (Araki et al., 2010; Winer et al., 2006). La littérature rapporte également que le niveau de stress oxydatif est plus élevé chez les enfants obèses en fonction du degré de l'insulino-résistance. Stress oxydant et inflammation vont contribuer à la dysfonction endothéliale initiale (Figure 6) qui constitue une étape précoce de l'athérosclérose et qui participe de l'exacerbation d'un niveau de risque cardiovasculaire à l'âge adulte (Codoñer-Franch et al., 2012b; Montero et al., 2012a).



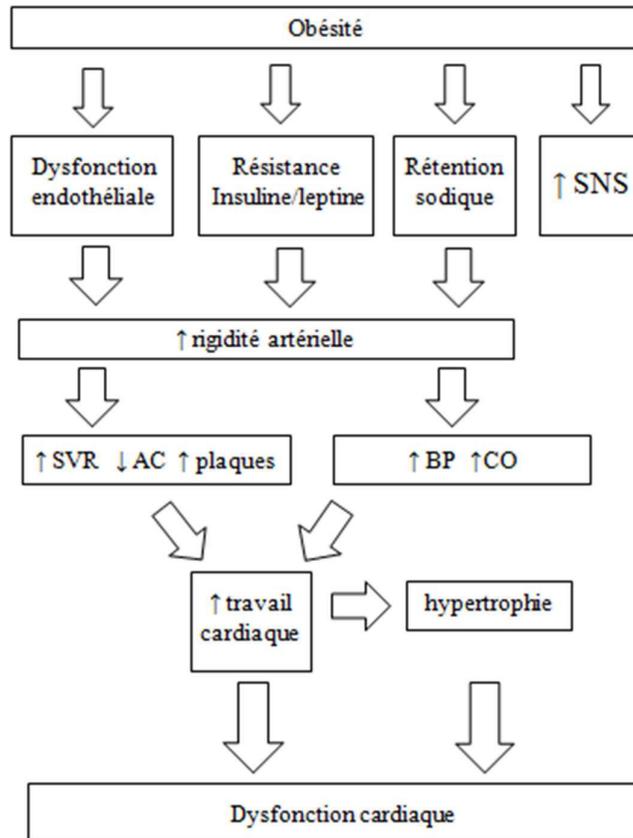
**Figure 6.** Contribution de l'inflammation et du stress oxydant à la dysfonction endothéliale d'après (Avogaro and de Kreutzenberg, 2005)

### *1.3.3.2 Les complications cardiovasculaires*

L'obésité est un facteur de risque majeur des complications et pathologies cardiovasculaires (Freedman et al., 2007). L'obésité infantile n'est pas seulement un facteur de risque cardiovasculaire à long terme, mais elle est associée à une véritable atteinte cardiovasculaire qui débute dès l'enfance (Montero et al., 2012a). De nombreux d'enfants obèses font état d'une hypertension avec une résistance à l'insuline associée (Raghuveer, 2010 (Aatola et al., 2017; Flynn et al., 2017). Les mécanismes responsables sont difficiles à évaluer et nécessitent plus de données issues d'études longitudinales avec la prise en compte du sexe, du statut pubertaire et de la durée d'obésité. Selon le 4<sup>ème</sup> rapport sur le diagnostic, l'évaluation et le traitement de l'hypertension artérielle chez les enfants et les adolescents, l'hypertension artérielle est diagnostiquée lorsque la PA systolique et / ou diastolique atteint une valeur au-dessus du 95<sup>ème</sup> percentile pour l'âge et le sexe (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents, 2004; Wirix et al., 2015).

Une pression artérielle élevée (PA) pendant l'enfance est associée à une augmentation de la rigidité artérielle chez les adultes, variable prédictrice indépendante de la mortalité cardiovasculaire ; d'où l'importance du contrôle de la PA dans la prévention primaire des maladies cardiovasculaires chez les enfants obèses (Aatola et al., 2017). La dysfonction endothéliale, la résistance à l'insuline et la leptine, la rétention de sodium, ainsi que l'élévation de l'activité sympathique conduisent à une augmentation de la rigidité artérielle (Rossi et al., 2011b). Ceci a pour conséquence une augmentation des résistances vasculaires périphériques; une augmentation de la PA et du débit cardiaque, ce qui va entraîner une augmentation du

travail cardiaque et potentiellement une hypertrophie cardiaque, qui vont conduire à une dysfonction cardiaque (Cote et al., 2013) (Figure 7).



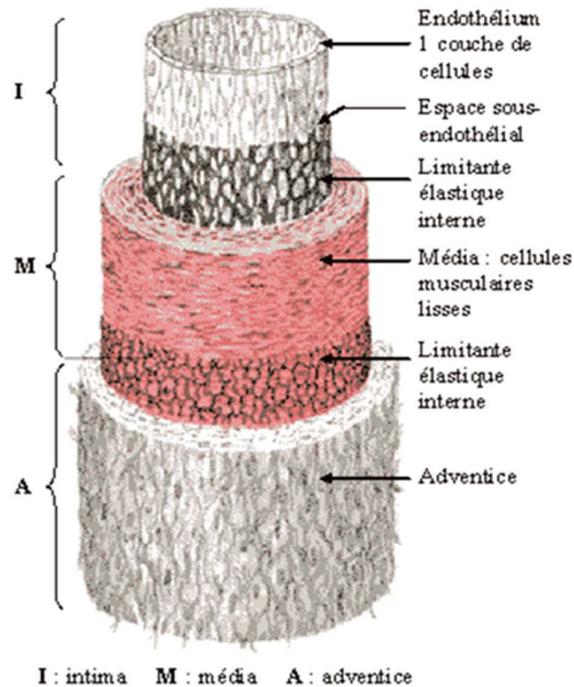
**Figure 7.** Mécanismes de dysfonction vasculaire liée à l'obésité chez les enfants obèses.

Schéma adapté (Cote et al., 2015).

## 2. Effets vasculaires de l'obésité

### 2.1 Qu'est-ce que la fonction vasculaire ?

La fonction vasculaire englobe la macrocirculation et la microcirculation qui sont respectivement constituées par les artères de conduit : élastiques (diamètre compris entre 1 et 2,5 cm) et musculaires (diamètre compris entre 3 mm et 1 cm), et l'ensemble des vaisseaux de résistance parmi les artérioles, les veinules, les « shunts » artério-veineux et les capillaires (diamètre des artérioles compris entre 100  $\mu\text{m}$  et 300  $\mu\text{m}$ , et 100  $\mu\text{m}$  à 7  $\mu\text{m}$  au niveau distal) (Rizzoni et al., 2017). L'ensemble constitue l'arbre artériel qui se compose d'artères dont le calibre décroît de l'aorte jusqu'aux artérioles, et dont la constitution est variable selon ces niveaux. La paroi artérielle est composée de structures histologiques de conduction et de maintien de la pression sanguine qui décrivent trois tuniques concentriques, l'adventice, la média et l'intima (*Figure 8*).



**Figure 8.** Différentes couches constitutives d'une artère.

Au niveau de l'intima, l'endothélium occupe une position stratégique à l'interface entre le sang et les tissus, en réagissant aux modifications physiques ainsi qu'aux métabolites et aux hormones transportés par le sang et tout ce qui survient dans son environnement. L'endothélium est à l'origine de la production de nombreuses substances vasoactives ; il joue donc un rôle majeur pour l'homéostasie vasculaire en maintenant en permanence un équilibre entre vasoconstriction et vasodilatation au niveau microcirculatoire et macrocirculatoire, avec différents mécanismes et voies de signalisation mis en jeu. En clinique les facteurs de vasorelaxation peuvent être explorés à partir des réponses observées lors de tests d'hypérémie réactive (post occlusion ou en réponse à des substances vasoactives) ou de dérivés nitrés (Cracowski and Roustit, 2016). Les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses communiquent entre elles par l'intermédiaire de jonctions serrées.

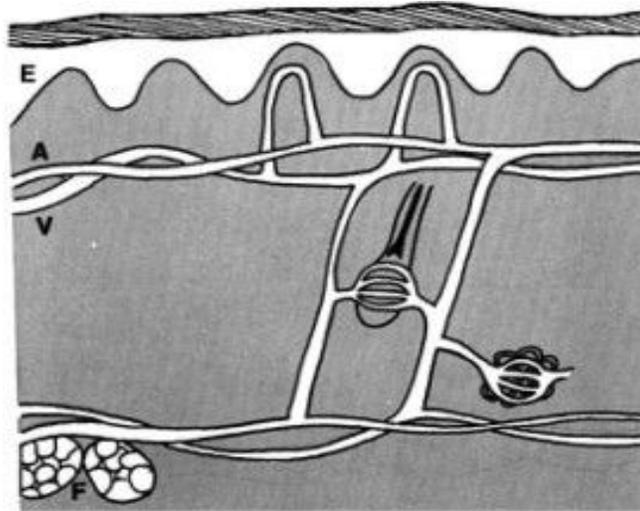
La cellule musculaire lisse de la média est essentielle au fonctionnement du réseau vasculaire grâce aux contractions et aux relaxations qui induisent des changements rapides du diamètre artériel. Le tonus vasculaire est ainsi déterminé par la contractilité des cellules musculaires lisses qui régulent ainsi le débit sanguin local et la pression artérielle moyenne. La densité de l'innervation des cellules musculaires lisses (CML) est inversement corrélée à la taille du vaisseau mais aussi à la résistance du vaisseau. Comme les petites artérioles pré-capillaires sont les plus innervées, elles jouent un rôle fondamental au niveau de la résistance vasculaire périphérique.

Les principales fonctions de la microcirculation sont de :

- 1) réguler la perfusion tissulaire, et les échanges avec la surface pour assurer la distribution adéquate de nutriments, d'oxygène et d'hormones
- 2) réguler la température cutanée
- 3) réguler et éviter de grandes fluctuations de la pression hydrostatique au niveau du capillaire
- 4) réguler les résistances vasculaires périphériques, et donc la pression sanguine (Bandini et al., 2013; Levy et al., 2001a)

La microcirculation cutanée présente l'avantage d'être facilement accessible à l'exploration de par sa situation superficielle, permettant d'étudier la fonction microcirculatoire de façon non invasive. La microcirculation cutanée reflèterait l'état de la circulation dans d'autres lits vasculaire (Holowatz et al., 2008; Humeau-Heurtier et al., 2013). Seuls le derme et l'hypoderme sont richement vascularisées La microcirculation cutanée est organisée comme deux plexus horizontaux supérieur et inférieur distincts, qui sont formés par les artérioles et les

veinules. Le premier plexus se situe environ entre 1 à 1,5 mm en dessous de la peau, et l'autre est situé au niveau de la jonction sous cutanée du derme. Les deux plexus sont interconnectés par les artérioles et les veinules. Le plexus supérieur, à partir duquel apparaissent les boucles capillaires nutritives, est situé dans le derme papillaire. Quant au plexus inférieur, il est formé par des vaisseaux qui perforent le derme des muscles sous-jacents et de la graisse sous-cutanée. (Braverman, 2000). Les anastomoses artério-veineuses sont fréquentes dans le derme surtout dans la peau épaisse. Elles ont l'aspect d'un canal tortueux unissant l'artériole à la veinule et faisant communiquer les plexus profonds et superficiels. Ces anastomoses artério-veineuses constituent un court-circuit possible permettant la variation du débit sanguin et participant à la régulation thermique (Figure 9).



**Figure 9.** Organisation de la microcirculation cutanée

E, épiderme ; A, artériole ; V, veinule ; F, graisse sous-cutanée

## 2.2 Régulation du tonus vasculaire

La vasomotricité est principalement régulée par l'endothélium sensible à de nombreux stimuli mécaniques (forces de cisaillements et pression artérielle) et/ou chimiques (acétylcholine,

angiotensine II, noradrénaline, ATP...). L'endothélium stimulé libère de nombreuses substances qui diffusent à la fois dans le sang et au niveau des cellules musculaires lisses pour provoquer une vasoconstriction ou une vasorelaxation.

Au repos, on observe un équilibre entre la vasoconstriction et la vasodilatation. La prépondérance de tel ou tel facteur vasorelaxant ou vasoconstrictant est dépendant du calibre artériel (Garland et al., 2017). L'ensemble de ces facteurs présente une redondance. Ainsi, dans le cas d'une dysfonction, des mécanismes de compensation peuvent s'installer.

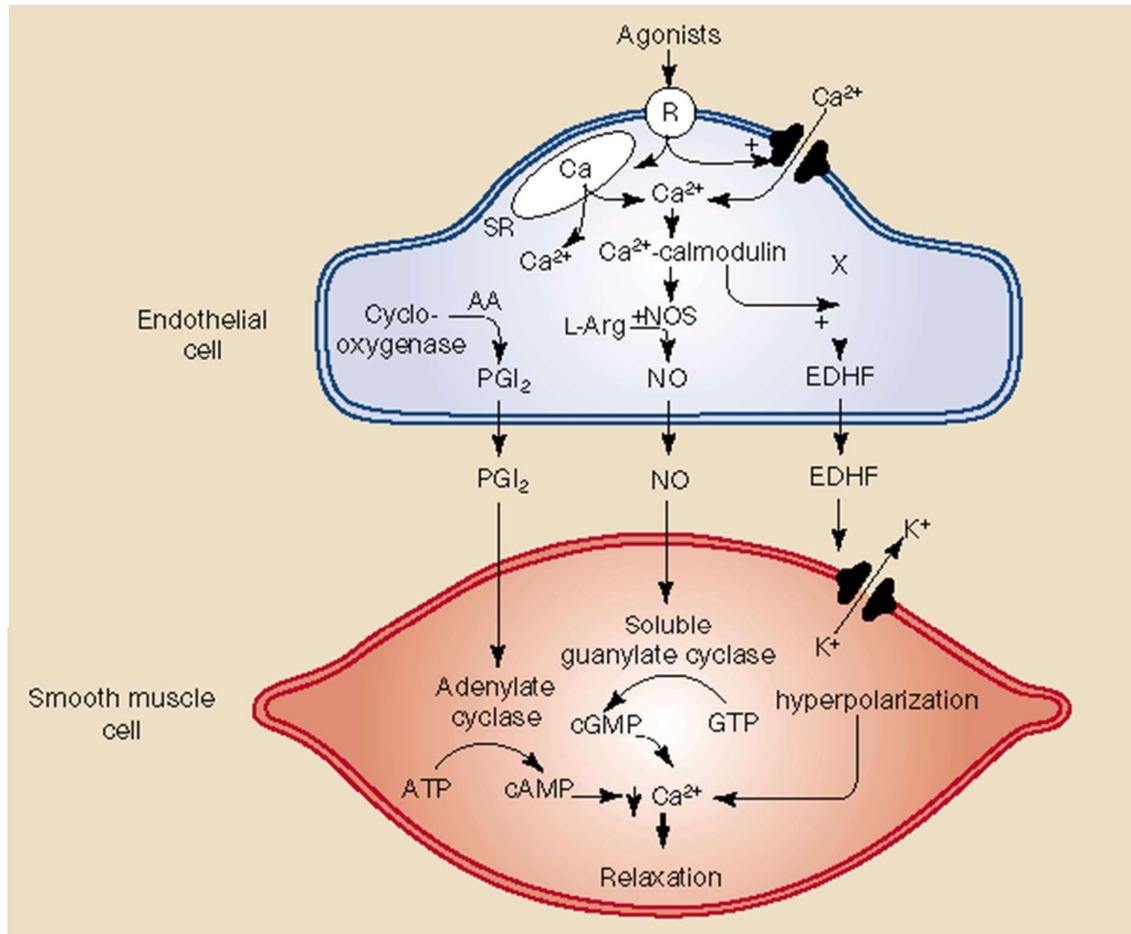
### **2.2.1 Facteurs de vasoconstriction**

A l'instar des cellules du muscle strié squelettique, l'état de contraction des cellules musculaires lisses vasculaires dépend de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique et de la sensibilité de l'appareil contractile au calcium. Lorsque les agents vasoconstricteurs tels que les endothélines de type 1, l'angiotensine de type 2, la norépinéphrine (alpha adrénergique), l'épinéphrine (alpha 1, Béta 1 et 2 adrénergiques), la phéniléphrine (alpha 2 adrénergique) stimulent leurs récepteurs vasculaires, l'activité de la phospholipase C augmente, entraînant la scission du phosphatidyl inositol en  $\text{IP}_3$  (inositol triphosphate) et DAG (1,2 diacylglycerol). La fixation du premier messenger  $\text{IP}_3$  sur ses récepteurs, induit l'activation des canaux calciques des citernes du réticulum endoplasmique, provoquant la sortie du calcium de ces réserves et par conséquent une augmentation de la concentration cytosolique en  $\text{Ca}^{2+}$ . Egalement, les récepteurs stimulés par le messenger  $\text{IP}_3$  agiraient spécifiquement sur des canaux Calcium de la membrane plasmique, permettant ainsi d'augmenter l'entrée du  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulaire (Taylor and Prole, 2012) Les prostanoides qui sont des eicosanoides synthétisés à partir des cyclo-oxygénases (COX) participent également de l'homéostasie vasculaire ; parmi eux, les prostaglandines

(PGE<sub>2</sub>) et la Thromboxane 2 (TxA<sub>2</sub>) jouent un rôle important pour le tonus vasculaire grâce à leurs actions au niveau de l'agrégation plaquettaire et de la vasoconstriction (Chen, 2018). Enfin, les radicaux libres de l'oxygène dont certaines espèces réactives d'oxygène peuvent être produites par différentes enzymes telles que la eNOS, la xanthine oxydase, la NADPH oxydase, les COXs vont également impacter le tonus vasculaire (Vanhoutte, 2001; Zalba et al., 2000). L'interaction des espèces réactives de l'oxygène avec le NO conduit à une diminution des effets vasodilatateurs du NO via la formation de peroxynitrites (Macarthur et al., 2008; Rubanyi and Vanhoutte, 1986) et une perte de sa biodisponibilité (Kojda and Harrison, 1999)

### **2.2.2 Facteurs de vasodilatation**

Les propriétés vasorelaxantes des vaisseaux artériels sont régulées principalement par trois voies : monoxyde d'azote (NO), prostacycline (PGI<sub>2</sub>) et facteur hyperpolarisant (EDHF) (*Figure 10*).



**Figure 10.** Facteurs de vasorelaxation dépendants de l'endothélium.

SR, réticulum endoplasmique ; NOS, NO synthase ; NO, monoxyde d'azote ; L-Arg, L-arginine ; cGMP, GMP cyclique ; EDHF, facteur hyperpolarisant dépendant de l'endothélium ; P-450, cytochrome P-450 ; PGI<sub>2</sub>, prostaglandines ; cAMP, AMP cyclique. D'après (Furchgott and Vanhoutte, 1989a)

Le monoxyde d'azote (NO) est un vasodilatateur bien identifié et caractérisé (Furchgott and Vanhoutte, 1989b). Le NO est produit à partir de la L-arginine sous l'action de la NO synthase; cette synthèse nécessite de l'oxygène, du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et trois cofacteurs : la tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>), la flavine adénine dinucléotide (FAD) et la flavine mononucléotide (FMN) (Sakuma et al., 1988; Schmidt et al., 1988). En tant que molécule de signalisation hydrosoluble, le NO diffuse d'une part, vers le pôle basal de

l'endothélium, où il provoque une relaxation des CML grâce à l'augmentation du taux intracellulaire de GMP cyclique (GMPc) et la diminution de la concentration de calcium cytosolique qui en découle ; et d'autre part, vers la lumière vasculaire où il exerce un rôle antiagrégant et anti-adhérent sur les plaquettes circulantes (Golbidi and Laher, 2013).

La prostacycline (PGI<sub>2</sub>) synthétisée par la cyclo-oxygénase à partir de l'acide arachidonique est le deuxième vasodilatateur d'origine endothéliale identifié. Intimement liée au NO, l'action vasodilatatrice de cette prostaglandine s'opère par une élévation du taux intracellulaire de d'AMP cyclique (AMPc) et par inhibition de la phosphodiesterase, au niveau des CML (Delpy et al., 1996). Il est toutefois bien établi que la relaxation endothélium dépendante est moins liée à l'expression de la PGI<sub>2</sub> que celle du NO qui est beaucoup plus importante (Corretti, 2004; Vanhoutte, 1998).

Enfin, le facteur hyperpolarisant (EDHF, endothelium-derived hyperpolarization factor) dont la nature chimique n'est que partiellement connue, contribue à la vasodilatation endothélium dépendante essentiellement dans les vaisseaux de résistances. Parmi les candidats EDHF, les acides époxyeicosatriénoïques qui sont des métabolites formés à partir de l'acide arachidonique par l'action du cytochrome P450 (Medow et al., 2007; Roustit and Cracowski, 2012) pourraient jouer un rôle prépondérant. L'EDHF agit en activant l'ouverture des canaux potassiques des CML entraînant ainsi leur hyperpolarisation et leur relaxation (Garland et al., 2011).

Même si les trois facteurs de vasodilatation contribuent à la relaxation du muscle lisse dans les artères de gros calibre, le médiateur responsable de la vasodilatation dans ces artères est le NO, comme cela a été observé dans les populations saines (Roca et al., 2018).

## 2.3 Effets de l'obésité infantile sur la fonction vasculaire

L'accumulation excessive de graisses dans le tissu adipeux et d'autres organes (i.e graisse ectopique) chez les enfants et adolescents obèses, est souvent accompagnée d'une élévation du niveau d'insuline, des lipides plasmatiques circulants, de la pression sanguine et de facteurs pro-inflammatoires, qui prédisposent au développement de l'athérosclérose (Carrillo et al., 2013; Lee and Lee, 2014; Ribeiro et al., 2005; Singh et al., 2015b). Des études épidémiologiques rapportent que le processus d'athérosclérose induit par l'obésité peut commencer dès l'enfance (Serdula et al., 1993). Ces altérations vasculaires peuvent entraîner une réduction de la compliance artérielle, qui peut à terme, favoriser l'hypertension artérielle (Prochotska et al., 2016a; Tounian et al., 2001a). Il y a donc un véritable intérêt d'aller (i) observer les éventuelles modifications structurales et fonctionnelles au niveau artériel grâce à des outils et des méthodes cliniques et (ii) étudier leurs relations avec des facteurs de risques cardiovasculaires, afin d'améliorer les diagnostics et les prises en charges thérapeutiques nécessaires des enfants obèses.

Les atteintes artérielles décrites chez les enfants obèses se situent à trois niveaux, avec des altérations de la morphologie artérielle (a), de la biomécanique artérielle b) et des anomalies fonctionnelles au niveau de la macro et microcirculation (c).

### 2.3.1 Remodelage artériel

Le remodelage artériel concerne les changements de diamètre et d'épaisseur intima-média (EIM) de l'artère. Ce remodelage est principalement étudié au niveau de l'artère carotide commune. Les études chez les enfants obèses rapportent un diamètre (Tounian et al., 2001a), une rigidité artérielle ainsi qu'une épaisseur de l'intima-media supérieurs au niveau carotidien en comparaison avec les enfants normo-pondérés de même âge (Aggoun et al., 2008a; Al-

Shorman et al., 2018; Montero et al., 2013; Reinehr et al., 2016; Tounian et al., 2001a; Urbina et al., 2009). Ces changements au niveau de la structure des vaisseaux sont liés à des facteurs de risques cardiovasculaires connus de l'obésité ; particulièrement, l'hypertension artérielle, l'inflammation chronique, ainsi qu'une altération du métabolisme glucidique (Meyer, 2006 ; Reinehr, 2006 ; Montero, 2012).

Outre l'association démontrée entre le développement de l'adiposité pendant l'enfance et des valeurs d'EIMc à l'âge adulte (Li, 2003), des études rapportent également que des valeurs élevées de pression sanguine (Juhola et al., 2013), de cholestérol total (Davis et al., 2001), d'IMC élevé et LDL cholestérol (Juonala et al., 2013) pendant l'enfance sont associées à une augmentation de l'EIMc à l'âge adulte (Dwyer et al., 2013). L'EIMc est considéré comme un marqueur de l'athérosclérose et un prédicteur de morbi-mortalité cardiovasculaire à l'âge adulte (Skilton et al., 2017).

La mesure de l'EIMc présente donc un véritable intérêt pour la prévention primaire et pour servir d'indicateur précoce d'un développement de l'athérosclérose chez les jeunes obèses (Dwyer et al., 2013). Les valeurs supérieures d'EIMc chez les enfants obèses ont été associées à des valeurs supérieures d'IMC (Meyer et al., 2006; Reinehr et al., 2006; Urbina et al., 2009), d'adiposité (Reinehr et al., 2006; Urbina et al., 2009), de pression artérielle systolique (Doyon et al., 2013) ainsi que d'inflammation (Aggoun et al., 2005; Urbina et al., 2009). Cette augmentation d'EIMc concerne les enfants obèses quel que soit leur stade pubertaire (Woo et al., 2004). Il est intéressant de constater que les corrélations entre l'EIMc et l'adiposité persistent après l'ajustement des facteurs de risque cardiovasculaire classiques (Urbina et al., 2009).

Ces augmentations de EIMc et de diamètre artériel chez les enfants obèses correspondent à un processus de remodelage de la paroi artérielle en réponse à l'augmentation de la tension

pariétale (Aggoun et al., 2008a). La mesure de l'EIM relative (EIM/diamètre diastolique) pourtant intéressante car elle permet une meilleure compréhension du processus de remodelage n'est que rarement rapportée.

Certains marqueurs inflammatoires (fibrinogène, PAI-1) en concentration élevée chez les enfants obèses sont corrélés à l'augmentation de l'EIMc. Ils pourraient participer à ce remodelage artériel en provoquant la prolifération des CML (Csongrádi et al., 2017; Masquio et al., 2013).

### **2.3.2 Fonction artérielle**

La compliance (ou rigidité) artérielle renseigne sur les propriétés mécaniques de la paroi. La compliance renseigne sur l'élasticité artérielle.

Dès l'enfance, l'obésité favorise un développement précoce et délétère des processus d'athérosclérose (Bass and Eneli, 2015; Clough and Norman, 2011), avec l'apparition précoce de phénomènes de rigidité artérielle. En effet, la compliance artérielle est diminuée chez les enfants obèses en relation avec l'IMC et l'hypertension (Aggoun et al., 2008a; Iannuzzi et al., 2004; Núñez et al., 2010).

Récemment, Prochotska et al. (Prochotska et al., 2016b) ont rapporté une augmentation proportionnelle de la rigidité artérielle en fonction de l'IMC avec les valeurs les plus élevées chez les adolescents (entre 12 et 17 ans) en obésité sévère (IMC zscore > 3,5). Un score composite de syndrome métabolique (incluant IMC Z score, pression artérielle moyenne, Z scores pour HDL cholestérol, triglycérides, et glycémie) était un meilleur prédicteur de la rigidité artérielle que le seul IMC.

### *2.3.2.1 Vasoréactivité des artères de conduit*

L'exploration de la vasoréactivité des artères de conduit peut se faire de façon non-invasive par le test d'hyperémie post-ischémique (en anglais Flow mediated dilation, FMD) et le test de contre-épreuve aux dérivés nitrés (DN). Ces différentes techniques seront décrites dans la partie méthodologie.

Selon la littérature, la fonction vasculaire (endothéliale et musculaire lisse) chez les enfants obèses est soit altérée soit préservée. De nombreuses études ont démontré une altération de la fonction endothéliale avec une diminution du FMD (Aggoun et al., 2008a; Ciccone et al., 2011; Tounian et al., 2001a; Zócalo et al., 2017a). Cette dysfonction concerne les enfants obèses quel que soit leur stade pubertaire (Chatrath et al., 2003). Une altération de la voie du NO explique cette dysfonction (Bruyndonckx et al., 2016; Gruber et al., 2008). Gruber et al (2008) ont rapporté des niveaux de COX, citrulline et métabolites du NO (nitrite et nitrate) inférieurs avec un taux d'arginine identique chez les enfants obèses par rapport aux enfants. Cette dysfonction vasculaire est associée ou non à une altération de la fonction du muscle lisse vasculaire (Montero et al. 2014; Ostrem, 2015). D'autres études ont rapporté au contraire une préservation de la fonction endothéliale malgré la présence de facteurs de risques cardiovasculaires (Charakida et al. 2012 ; Montero et 2014). L'hypothèse avancée serait que la fonction endothéliale s'adapterait aux conséquences hémodynamiques de l'adiposité contrecarrant ainsi les effets délétères de l'obésité sur la fonction vasculaire. Les auteurs s'accordent à dire que cette adaptation serait transitoire avant une rupture de ce phénomène de compensation et l'installation d'une dysfonction (Charakida et al. 2012 ; Montero et 2014, Ryder et al. 2016).-

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces différences de résultat sur la fonction endothéliale chez les enfants obèses :

La prise en compte ou non du statut pubertaire. En effet, la maturité sexuelle engendre des changements hormonaux et physiologiques dynamiques qui peuvent en partie expliquer les divergences de résultat (Montero et al., 2012b). Pour autant, la fonction endothéliale préservée a été rapportée aussi bien chez des enfants obèses prépubères (Charakida et al., 2012a) que pubères (Montero et al., 2014a). Il en est de même pour la dysfonction retrouvée aussi bien chez des prépubères (Karpoff et al., 2009a) que des pubères (Zócalo et al., 2017a).

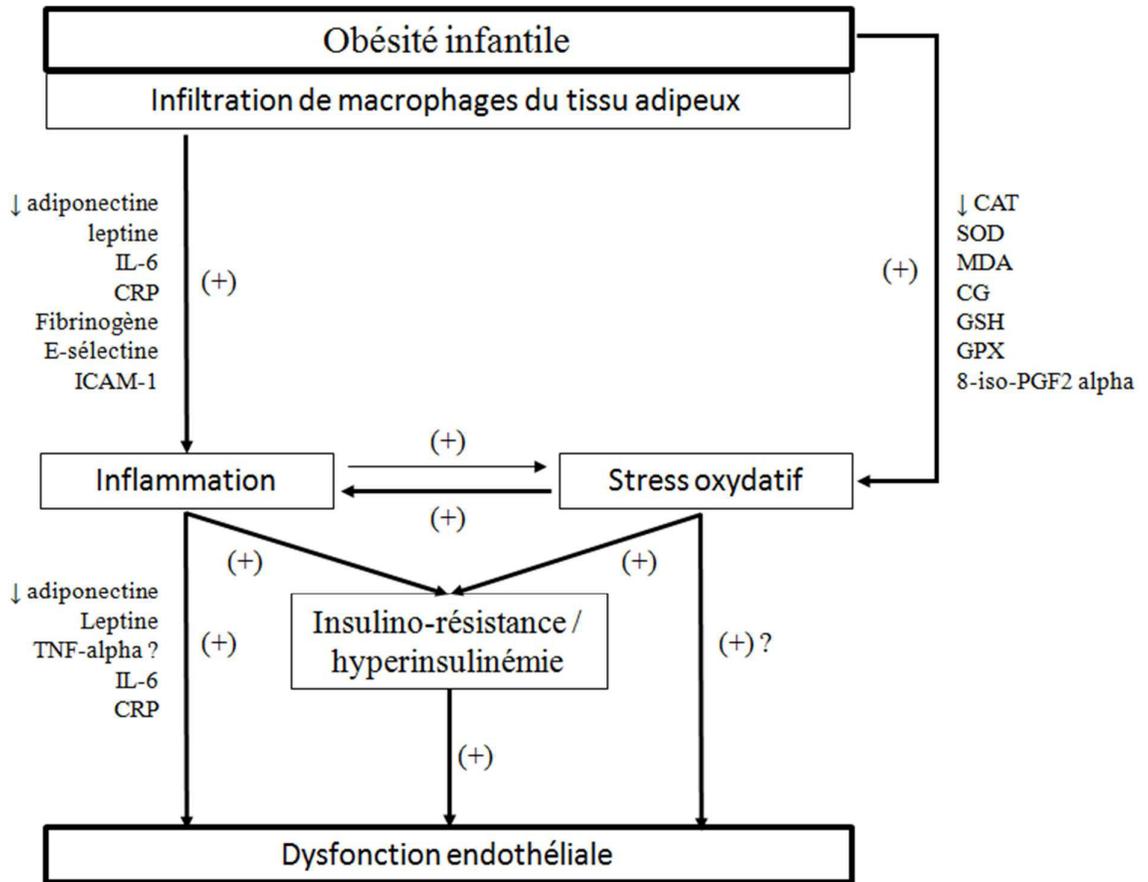
Le degré de sévérité et la durée d'obésité sont également des paramètres à prendre en compte (Atkinson et al., 2015; Charakida et al., 2012a; Montero et al., 2012b; Ostrem et al., 2015). Les résultats généralement rapportés sous forme de moyenne ne permettent pas de spécifier les variations individuelles.

L'insuline a un effet direct sur la fonction endothéliale en stimulant la production de NO via la voie PI-3 kinase/Akt. Ainsi le niveau d'insulino-résistance (variable selon le stade pubertaire) (Brandou et al., 2005b) est un paramètre important pour appréhender la fonction endothéliale. Pour autant, une étude chez l'enfant a montré l'absence de relation entre le niveau d'IR et la dysfonction endothéliale (Karpoff et al., 2009a) alors que deux autres études montrent une relation entre ces deux paramètres (Brar et al., 2017; Bruyndonckx et al., 2016).

Le statut inflammatoire (variable selon le stade pubertaire) (Montero et al., 2012c) joue un rôle clé dans la dysfonction endothéliale des enfants obèses (Agarwal et al., 2013; Singh et al., 2017). La masse grasse notamment viscérale est reconnue comme un siège de la production molécules pro-inflammatoires telles que les adipocytokines (*Figure 11*).

Le statut pro-oxydant (variable selon le stade pubertaire, Montero 2012) joue aussi un rôle clé dans la dysfonction endothéliale des enfants obèses. Peu d'études chez l'enfant obèse se sont intéressées à cette relation (Codoñer-Franch et al., 2012c; Montero et al., 2014a). Pour exemple, Kelidashi et al (2008) ont rapporté une corrélation négative entre la vasorelaxation endothélium-dépendante au niveau de l'artère brachiale et les taux de malondialdhyde et les LDL-oxydés chez des adolescents obèses.

Enfin, des différences au niveau des méthodologies d'évaluation utilisées telles que la durée d'occlusion, le site d'occlusion (Green), l'indexation ou non au shear rate (Carter et al., 2013; Thijssen et al., 2011a) et la présence ou l'absence de contre-épreuve aux dérivés nitrés peuvent également expliquer la divergence des résultats.



**Figure 11.** Schéma de Montero, 2011. Relation entre inflammation de bas bruit, stress oxydant et dysfonction endothéliale chez les enfants obèses.

Les altérations de certaines adipokines pro-inflammatoires en interaction avec des réactifs mènent à la dysfonction endothéliale directement ou indirectement en favorisant une insulino-résistance. La dysfonction endothéliale peut également résulter d'un stress oxydatif accru, réduisant la biodisponibilité du NO, bien que cela n'ait pas été démontré spécifiquement dans la population obèse infantile. CAT, catalase; CG, carbonyl group; GPx, glutathione peroxidase.

### 2.3.2.2 Vasoréactivité au niveau microcirculatoire

La fonction microvasculaire chez l'homme ainsi que les mécanismes physiologiques spécifiques de la microcirculation peuvent être évalués au niveau de la peau, en mesurant les réponses vasculaires à divers stimuli pharmacologiques (par iontophorèse d'agents vasoactifs)

ou physiques (hyperthermie, test d'hyperémie réactive, en anglais Post-occlusive reactive hyperemia PORH). Ces différentes techniques seront décrites dans la partie méthodologie.

D'après la littérature émergente, les dysfonctions au niveau microcirculatoire contribueraient au développement des maladies cardiométaboliques (Wiernsperger and Rapin, 2012). Les territoires microcirculatoires peuvent être largement et précocement altérés (Pinkney et al., 1997). Ainsi, la dysfonction endothéliale au niveau microcirculatoire, un remodelage structural de vaisseaux, et la diminution de la perfusion sanguine due à un phénomène de raréfaction des microvaisseaux précèdent l'apparition d'une hypertension artérielle (Levy et al., 2001b), de l'artérosclérose (Davignon and Ganz, 2004), ou encore l'insulino-résistance (Serné et al., 2007).

Le retentissement de l'obésité infantile sur la microcirculation reste relativement peu étudié avec des résultats divergents (Chin et al., 1999a; Monostori et al., 2010a; Montero et al., 2014a; Patik et al., 2016; Schlager et al., 2011a).

Certaines études ont rapporté que les enfants obèses présentent des altérations de la fonction microvasculaire comparés avec des sujets normo-pondérés de même âge (Bhattacharjee et al., 2010a; Chin et al., 1999a; Schlager et al., 2011a). Les anomalies vasculaires observées chez les enfants obèses peuvent être attribuées à une diminution de la capacité de vasoconstriction des artérioles. Ceci aurait pour conséquence une perte d'intégrité du système vasculaire qui ne permettrait plus de répondre de manière adéquate aux stimuli vasculaires. L'identification d'une dysfonction endothéliale précoce laisse suggérer que ces processus homéostatiques sont altérés, et pourraient favoriser le risque de processus athérosclérotiques précoces émergeant dès l'enfance (Bhattacharjee et al., 2010a; Schlager et al., 2011a). D'autres études concluent que les réponses de la microcirculation cutanée observées chez les enfants obèses seraient principalement des réponses compensatoires physiologiques, allant jusqu'à masquer une

altération de la vasorelaxation endothélium indépendante au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires ; il ne s'agirait donc pas de réponses inhérentes à un état pathologique (Chin et al. 1999; Montero et al. 2014). Les mécanismes biologiques en question impliquent principalement les prostaglandines et/ou le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF), qui vont agir de façon compensatoire (Roustit and Cracowski, 2013a) afin de maintenir, de façon transitoire, une fonction endothéliale préservée (Montero et al., 2014a) et assurer un rendement microvasculaire qui semblera tout à fait normal.

Les résultats contrastés rapportés sur la microcirculation chez les enfants obèses, peuvent s'expliquer, à l'instar des résultats issus d'évaluations réalisées au niveau macrovasculaire, par la variété des techniques utilisées, mais aussi, par le phénomène de maturation pendant la phase pubertaire. Cette phase pubertaire est susceptible de modifier l'homéostasie métabolique et vasculaire, favorisant des processus d'angiogenèse, ainsi que des états pro-inflammatoire et pro-oxydant (Montero et al., 2012b). D'autres études sont nécessaires afin de mieux comprendre ces phénomènes et afin d'élucider la progression du dysfonctionnement microvasculaire de l'enfance à l'âge adulte.

### *2.3.2.3 Effets vasculaires de l'insuline*

La littérature a mis en évidence le rôle de l'insuline dans la vasodilatation microvasculaire et le recrutement capillaire au niveau du muscle squelettique, permettant ainsi de rediriger efficacement le flux sanguin (Barrett and Liu, 2013). En l'absence d'une augmentation importante de débit sanguin, l'insuline va rediriger le flux sanguin des microvaisseaux non nutritifs vers les microvaisseaux nutritifs. Ce phénomène a pour conséquence une augmentation nette du nombre total de réseaux capillaires nutritifs perfusés et une augmentation subséquente de la disponibilité en insuline et en glucose. Il a été démontré que ce processus dépend de l'endothélium par le biais de la phosphorylation de la eNOS, indépendante du calcium, induite

par la voie PI3-K / Akt induisant la production d'oxyde nitrique (NO) et la vasodilatation. La littérature a également démontré que l'insuline a des effets vasoconstricteurs du fait de la production d'endothéline-1 via Ras / MAPK (Karaca et al., 2014).

Une augmentation des résistances vasculaires périphériques ainsi qu'une diminution de l'absorption de glucose stimulée par l'insuline dans les cellules cibles ont déjà été rapportées dans le cas de dysfonctions au niveau microvasculaire (Clark, 2008). Cette résistance métabolique à l'insuline est couplée fonctionnellement à une résistance vasculaire à l'insuline via des voies de signalisation communes à l'insuline, dans l'endothélium et le muscle squelettique. Par ailleurs, une altération des effets vasodilatateurs locaux de l'insuline aussi liée au statut inflammatoire a été démontrée chez les sujets MetS (Vinet et al., 2015).

## **2.4 Obésité, déficience en vitamine D, et fonction vasculaire**

### **2.4.1 La vitamine D**

La carence en vitamine D est un problème de santé mondiale (Holick, 2017). En France, L'Etude Nationale Nutrition Santé 2006-2007 (ENNS) a mis en évidence que 80% de la population française présenterait une insuffisance en vitamine D (Castetbon et al., 2009).

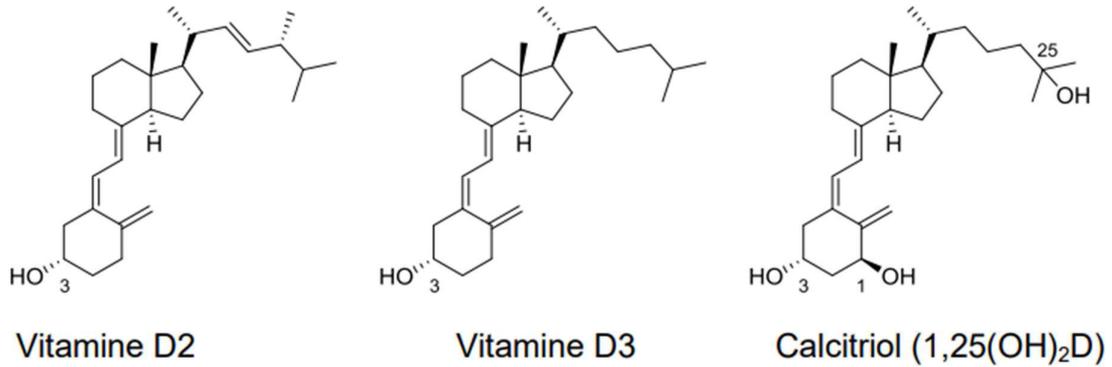
La vitamine D est apportée de façon exogène par l'alimentation, mais c'est bien l'exposition au soleil qui offre de manière essentielle les conditions idéales à sa synthèse. Le rôle de la vitamine D pour le maintien de la santé osseuse est bien connu.

Plus récemment, les études se sont intéressées aux effets extra-phospho-calciques de la vitamine D. La littérature démontre que la vitamine D est impliquée dans la régulation et l'expression

de nombreux gènes impliquées dans des cibles organiques différentes (Wacker and Holick, 2013a).

#### ***2.4.1.1 Origine et métabolisme de la vitamine D***

La vitamine D est une vitamine liposoluble faisant partie de la famille des sécostéroïdes qui doit être considérée comme une prohormone. Sa présence dans l'organisme existe sous deux formes toutes deux liposolubles qui vont subir une conversion pour donner naissance à un métabolite actif principal : la 1,25-dihydroxyvitamine D également appelée calcitriol. D'origine exogène, la Vitamine D2 ou ergocalciférol est la forme végétale de la vitamine D. On la retrouve dans les aliments tels que les levures, les champignons et les céréales, et d'autres végétaux, mais en faible quantité. Sous l'action des UV, la provitamine D qui est un précurseur de la vitamine D également connu sous le nom ergostérol, va subir une isomérisation sous l'effet de la température qui aboutit à la formation d'ergocalciférol. La Vitamine D3 ou cholécalciférol a quant à elle deux origines distinctes (*Figure 12*) : (1) Une première origine endogène, via la biosynthèse de la vitamine D par la peau (couche profonde de l'épiderme) à partir du 7-déhydrocholestérol ou pro-vitamine D3 (7-DHC). Le 7-DHC est un intermédiaire de synthèse du cholestérol, présent dans les membranes des cellules du derme et de l'épiderme, sous l'effet des rayonnements UVB. Le 7-DHC est alors converti en pré-vitamine D3 avant de subir une isomérisation thermique qui conduit à la formation de cholécalciférol ou vitamine D3.



**Figure 12.** Formes de vitamine D alimentaire (D2 et D3) et leur métabolite actif (calcitriol)  
(Anses, rapport d'expertise collective sur la vitamine D, 2016).

(2) Une seconde origine est l'alimentation, avec peu d'aliments contributeurs (Tableau n°1). On distingue les aliments riches en vitamine D3 comme les poissons gras (foie de morue, hareng, sardine, saumon, anchois, maquereau...) et les aliments enrichis (produits laitiers et huiles) et dans une moindre mesure les œufs et les abats ; ainsi que des aliments riches en vitamine D2 qu'on retrouve essentiellement dans les champignons.

**Tableau 1.** Teneur en vitamine D pour 100 g d'aliment (Table du CIQUAL 2012)

Aliments	Teneur en vitamine D	
	µg	UI
Huile de foie de morue	250	10000
Foie de morue	54	2160
Hareng fumé	22	880
Sardines conserve	11	440
Saumon cuit	9	360
Champignons	3,8	150
Beurre	1	40

La vitamine D (D2 ou D3) est transportée dans le sang par une protéine de transport, la Vitamin D-Binding Protein (DBP), jusqu'au niveau hépatique où elle est hydroxylée (cytochrome P450 27B1) sur le carbone 25 pour former la 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D]

ou calcidiol, forme de stockage (Schuster, 2011). La 25(OH)D possède une demi-vie relativement longue (3 à 4 semaines), avec des concentrations plasmatiques moyennes comprises entre 20 et 50 ng/ml (25 à 125 nmol/L). Par la suite, la 25(OH)D est soit excrétée à nouveau dans la circulation sanguine, soit transloquée à la mitochondrie pour subir une hydroxylation via une enzyme 1-alpha hydroxylase. Cette seconde hydroxylation aboutit à la synthèse du 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) ou calcitriol, considéré comme la principale forme active de la vitamine D (Dusso et al., 2005). Cette seconde étape signe la formation de 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25-(OH)<sub>2</sub>D] à partir de la 25-hydroxyvitamin D, qui correspond à la bioactivation de la VD qui apparaît principalement au niveau rénal, sous certaines conditions physiologiques (Fraser and Kodicek, 1970). Partant de cette origine rénale, le calcitriol va agir à distance et notamment au niveau de la cellule intestinale où il favorise l'absorption active intestinale du calcium (Holick, 2011) (Figure 13).

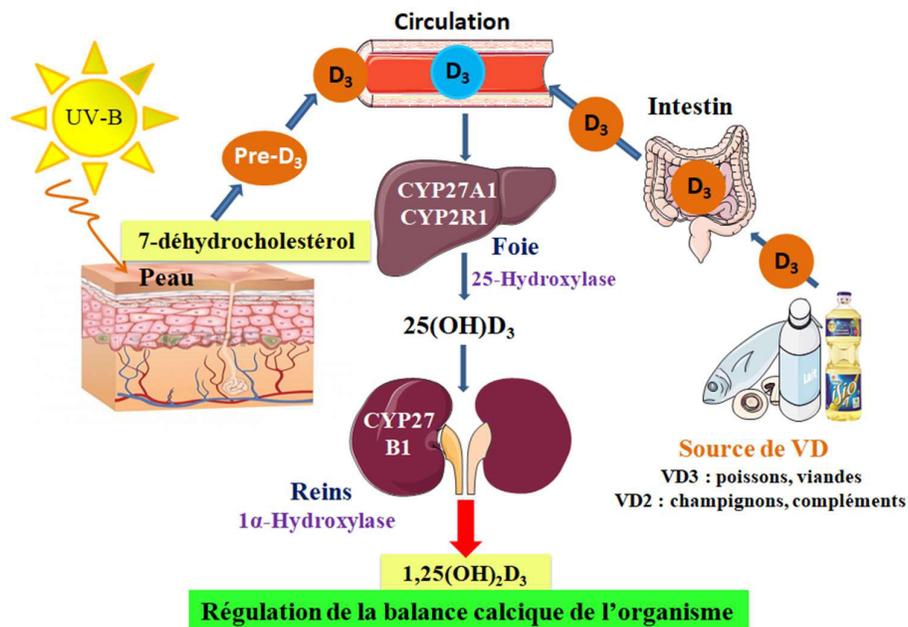
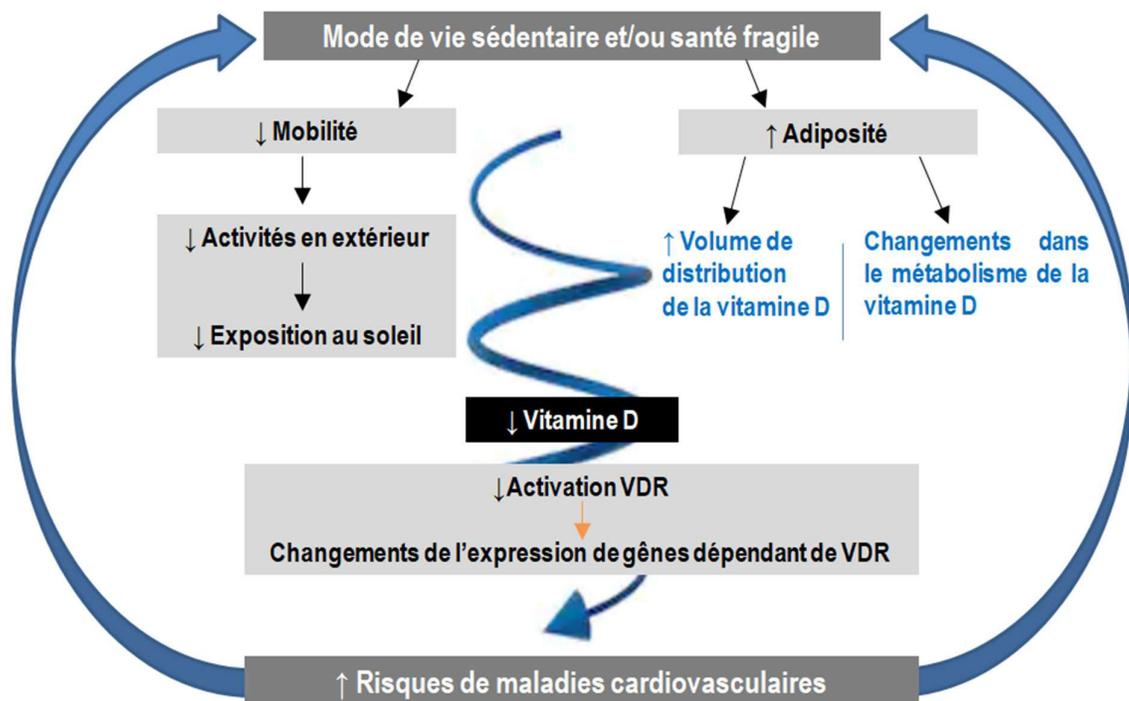


Figure 13. Métabolisme de la vitamine D.

### 2.4.1.2 Déterminants du statut en vitamine D

Sous l'effet d'une exposition au soleil et de ses rayonnements ultraviolets B (UVB), le 7-déshydrocholestérol est converti en vitamine D<sub>3</sub> dans la peau. Ce mécanisme de synthèse endogène qui se déroule au niveau de l'épiderme après une exposition aux rayonnements ultraviolets B (UVB) constitue la principale source de vitamine D<sub>3</sub>. Toutefois, une variété de facteurs tels que l'heure de la journée, la saison de l'année, la latitude, le vieillissement, l'utilisation de crèmes solaires, degré de pigmentation de la peau ainsi que des facteurs génétiques (Bouillon, 2010) peuvent réduire de manière considérable la production cutanée de vitamine D<sub>3</sub> (Holick et al., 2007) (Figure 14).



**Figure 14.** Déterminants du statut en vitamine D. Schéma adapté de (Gangloff et al., 2016).

Idéalement, l'énergie fournie par les rayons UVB permet la transformation du 7-déshydrocholestérol en pré- vitamine D3, elle-même rapidement convertie sous l'effet de la chaleur en vitamine D3, pour être finalement libérée dans la circulation sanguine.

Il a longtemps été admis que la vitamine D était absorbée par un mécanisme de diffusion passive. Récemment, les études de Goncalves et al (Goncalves et al., 2011, 2013, 2015) ont démontré que les mécanismes d'absorption intestinale impliquaient des transporteurs membranaires du cholestérol tels que SR-BI, CD36 et NPC1-L1 et que des molécules présentes dans notre alimentation (phytostérols) et pharmaceutiques utilisées pour inhiber l'absorption du cholestérol (e.i : Ezétimibe – Ezetrol®) pouvaient également diminuer l'absorption de la vitamine D (Reboul et al., 2011).

#### ***2.4.1.3 Apports recommandés en vitamine D***

En France et selon l'agence de sécurité sanitaire (Anses, 2016), l'estimation des besoins en vitamine D a été réalisée à partir des apports quotidiens minimaux de vitamine D nécessaires à la prévention ou la correction d'une carence clinique et/ou biologique en vitamine D chez l'enfant et l'adulte, soit 10 à 15 µg (400-600 UI) par jour (Tableau 2).

**Tableau 2.** Bilan des références nutritionnelles pour la vitamine D ( $\mu\text{g}/\text{j}$ ) ( $1 \mu\text{g} = 40 \text{ UI}$ )  
(Tableau de l'Anses, 2016)

	Afssa (2001)	D-A-CH (2015)	EFSA <sup>8</sup>	IOM (2011)	NHMRC (2006)	NCM (2014)	OMS (2004)
<b>Hommes</b>							
âge	19-74	+ de 19		+ de 19	19-50 51-70	18-75	19-50 51-65
<i>BNM</i>	ND	ND	-	10	ND	7,5	ND
<i>Référence populationnelle</i>	5* 10* en cas de non exposition	20* en cas de non exposition	15* <sup>b</sup>	15	5* 10*	10	5* 10*
<b>Femmes</b>							
âge	19-74	+ de 19		+ de 19	19-50 51-70	18-75	19-50
<i>BNM</i>	ND	ND	-	10	ND	7,5	ND
<i>Référence populationnelle</i>	5* 10* en cas de non exposition	20* en cas de non exposition	15* <sup>b</sup>	15	5* 10*	10	5* 10*

*BNM, besoin nutritionnel moyen ; D-A-CH, pays germanophones : Allemagne – Autriche – Suisse ; EFSA, Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire ; NCM, Conseil des ministres nordique ; NHMRC, Conseil national australien de la recherche médicale et de la santé - ministère de la Santé de la Nouvelle-Zélande ; IOM, Institut de Médecine ; OMC, Organisation Mondiale de la Santé. Source Anses, rapport d'expertise collective (2016).*

#### 2.4.1.4 Evaluation du statut en vitamine D

La concentration en 25-hydroxyvitamine D 25(OH)D est le marqueur biologique du statut en vitamine D utilisé, qui constitue la forme de réserve. Bien que le seuil biologique correspondant à une carence ait été fixé à 30 nmol/L (Anses, 2016), il n'existe pas de consensus reposant sur des valeurs de référence de la concentration en vitamine D permettant d'identifier, de façon claire et définitive, une carence, une insuffisance et un taux optimal à atteindre (HAS, 2013). De nombreux auteurs et sociétés savantes considèrent qu'un taux de 75 nmol/L est la concentration plasmatique de 25(OH)D à atteindre (Benhamou, 2008; Dawson-Hughes, 2013;

Hanley et al., 2010; Holick et al., 2011), ; cette valeur est retenue par plusieurs sociétés savantes (tableau n°3). Si le dosage sérique du taux de 25(OH)D est recommandé pour évaluer le statut de vitamine D chez les patients qui présentent un risque de carence en vitamine D tels que les enfants obèses (Holick et al., 2011), d'autres paramètres d'intérêt vont influencer directement ou indirectement le statut en vitamine D. L'hormone parathyroïdienne (PTH), l'absorption de calcium ou encore la densité minérale osseuse, sont des marqueurs spécifiques qui permettent d'apprécier si les taux circulants de 25(OH)D sont satisfaisants.

La normalisation de la PTH en fonction du statut en 25(OH)D implique indirectement que ces valeurs peuvent être proposées pour définir la carence et l'insuffisance en vitamine D, mais aussi afin d'orienter les décisions en matière de traitement (Holick et al., 2011). Lorsque la synthèse de 1,25 (OH) 2D est bien régulée, la synthèse et la sécrétion de PTH au niveau des glandes parathyroïdes diminuent (Wacker and Holick, 2013b). Les études rapportent que les statuts non adéquats de 25(OH)D chez les personnes obèses sont associés à des niveaux plus élevés de PTH dans le sérum sanguin, et certaines études postulent pour considérer la PTH comme un prédicteur indépendant de l'obésité (Kamycheva et al., 2007). Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'élévation des valeurs sanguines de PTH chez des personnes en surpoids ou obèses. La PTH stimule au niveau rénal l'hydroxylation de 25(OH)D en sa forme active, 1,25(OH)2D, qui à son tour élève l'afflux de calcium dans les adipocytes (Portale and Miller, 2000; Reinehr et al., 2007). D'autres études qui se sont intéressés à la fonction musculaire ont rapporté que des taux de 25(OH)D égal ou supérieur à 30 ng / mL sont jugés satisfaisants pour une bonne santé et pour avoir des effets musculo-squelettique positifs (Fischer et al., 2008; Holick, 2017; Valcour et al., 2012).

**Tableau 3. Statut en vitamine D en fonction des niveaux plasmatiques de 25(OH)D d'après un consensus de sociétés savantes (Saggese et al., 2018)**

Définition du statut en vitamine D en accord avec les sociétés savantes (exprimé en ng/L et nmol/L)				
Source/organisation	Année	Carence en vitamine D	Insuffisance en vitamine D	Valeurs cibles optimales en vitamine D
Institut de Médecine	2011	< 12 ng/ml < 30 nmol/ml	12–20 ng/ml 30–50 nmol/ml	≥ 20 ng/ml ≥ 50 nmol/ml
La Société d'Endocrinologie	2011	< 20 ng/ml < 50 nmol/ml	21–29 ng/ml 52,5–72,5 nmol/ml	≥ 30 ng/ml ≥ 75 nmol/ml
Société Française de Pédiatrie	2012	< 20 ng/ml < 50 nmol/ml	-	≥ 20 ng/ml ≥ 50 nmol/ml
Europe Centrale	2013	< 20 ng/ml < 50 nmol/ml	21–29 ng/ml 52,5–72,5 nmol/ml	≥ 30 ng/ml ≥ 75 nmol/ml
Société pour la médecine et la santé des adolescents	2013	< 20 ng/ml < 50 nmol/ml	21–29 ng/ml 52,5–72,5 nmol/ml	≥ 30 ng/ml ≥ 75 nmol/ml
Société d'Endocrinologie Japonaise	2017	< 20 ng/ml < 50 nmol/ml	21–29 ng/ml 52,5–72,5 nmol/ml	≥ 30 ng/ml ≥ 75 nmol/ml

Les niveaux de vitamine D dépendent de nombreux facteurs, notamment de la protéine de liaison à la vitamine D (DBP pour vitamin D binding protein). L'hypothèse est que la liaison à la protéine rend la forme inactive. La majorité de la 25(OH)D et de la 1,25(OH)<sub>2</sub>D en circulation est étroitement liée au DBP et à l'albumine, avec moins de 1% circulant sous une forme non liée, ce qui modifie l'interprétation des taux circulants de 25(OH)D (Jassil et al., 2017)

#### 2.4.1.5 Mécanismes d'action de la vitamine D

Longtemps considérée comme un nutriment essentiel à la bonne santé du squelette, la vitamine D suscite plus récemment l'intérêt des communautés médicales et nutritionnelles en raison de l'accumulation de nouvelles connaissances liées à ses fonctions biologiques et à son association à une diminution des risques pour de nombreuses maladies chroniques. Les deux fonctions principales bien connues de la vitamine D sont (1) d'augmenter l'efficacité de l'absorption intestinale du calcium et du phosphore et (2) au niveau osseux : d'activer de façon directe la résorption osseuse en réponse à une hypocalcémie, en favorisant la différenciation ainsi que l'activation des cellules souches mésenchymateuses de l'os en ostéoclastes (Holick, 2011). Plus

récemment, la littérature a montré que l'amélioration du statut de la vitamine D chez des personnes déficientes pouvait améliorer de façon significative l'expression de gènes liés à une variété de fonctions biologiques (Figure 15) impliquant plus de 80 voies de signalisation liées aux maladies cancéreuse, auto-immune, et cardiovasculaire (Hossein-nezhad and Holick, 2013; Schulz et al., 2014).

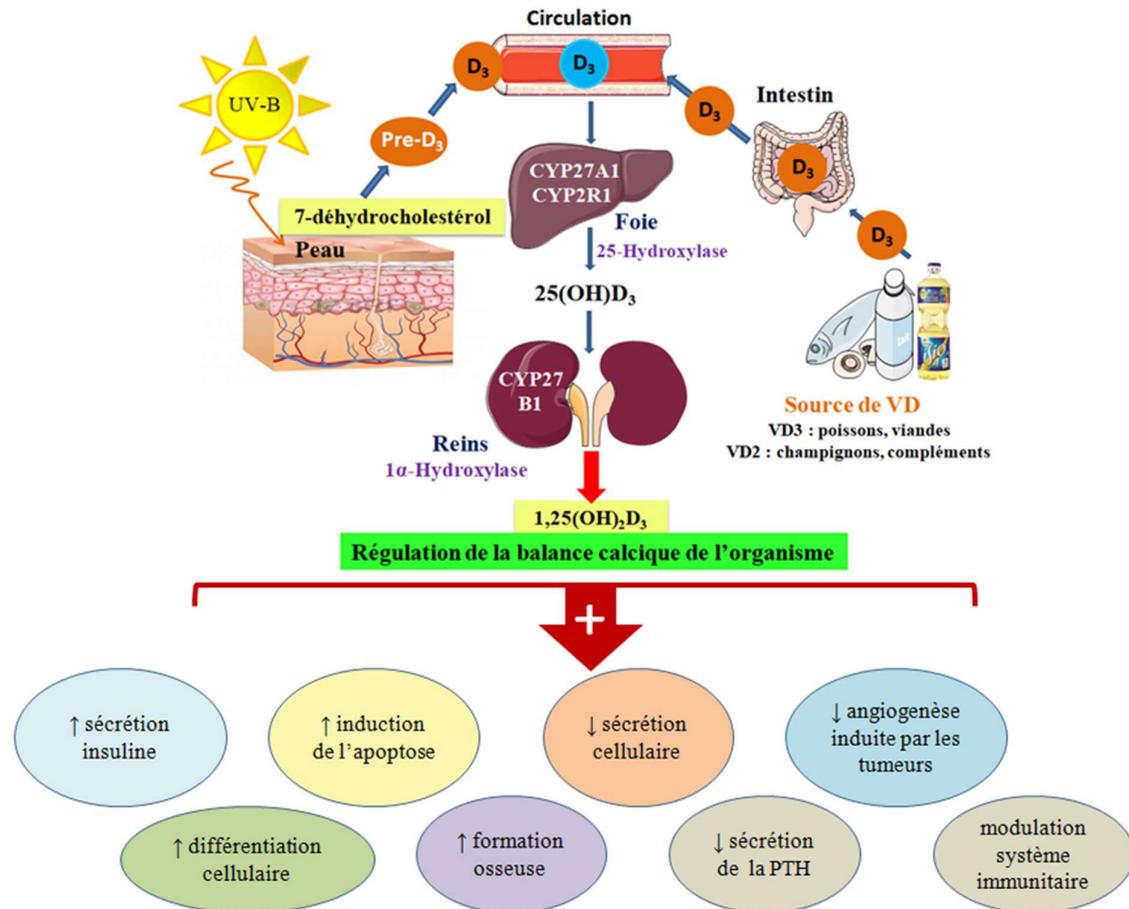


Figure 15. Effets osseux et extra-osseux de la vitamine D.

### **Comment la vitamine D agit-elle ?**

Suite à la formation de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D à partir de la 25(OH)D qui signe la bioactivation de la vitamine D, principalement au niveau rénal (Dusso et al., 2005), le calcitriol va agir à distance et notamment au niveau de la cellule intestinale où il favorise l'absorption active intestinale du calcium. Le calcitriol transporté via la circulation jusqu'à ses tissus cibles peut alors exercer des effets endocriniens. Grâce à l'expression de la CYP27B1, les effets autocriniens, paracriniens et intracriniens du calcitriol vont se produire au sein de nombreux tissus et types cellulaires (Holick, 2003; Landrier et al., 2016), avec des effets génomiques et non-génomiques. Les effets génomiques sont bien renseignés dans la littérature qui confirme aussi le rôle central d'un récepteur spécifique à la VD (VDR) (Carlberg and Seuter, 2009) (*Figure 16*).

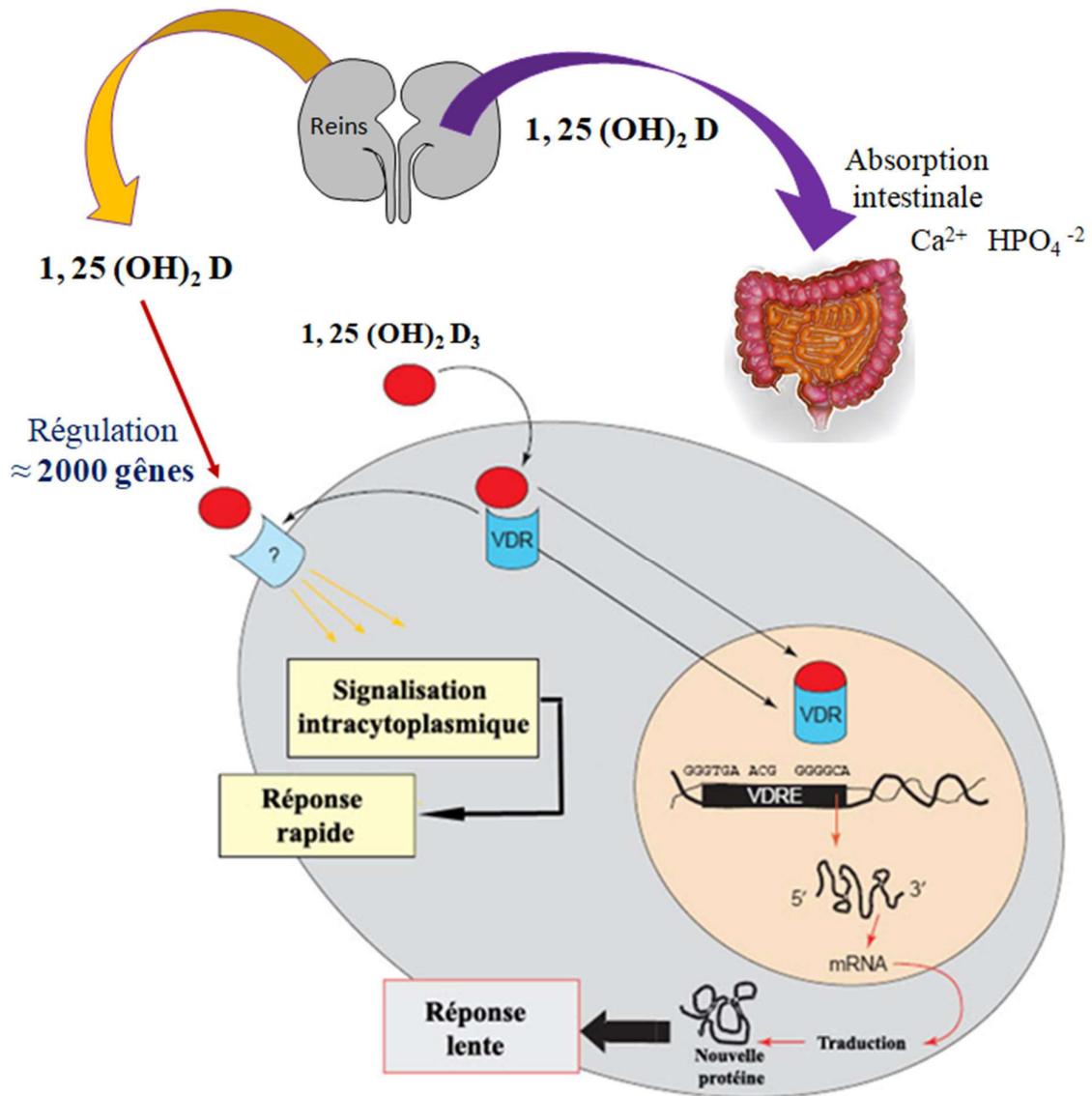


Figure 16. Effets génomiques de la vitamine D.

Ce VDR est exprimé dans la plupart des tissus, qui deviennent des cibles potentielles du calcitriol (Zhong et al., 2014). Après la liaison du calcitriol avec le VDR (Valdivielso, 2009), le complexe VDR-calcitriol est transloqué au noyau de la cellule pour se lier à l'ADN en présence de ligand au sein de sites appelés éléments de réponse à la VD (VDRE). Enfin,

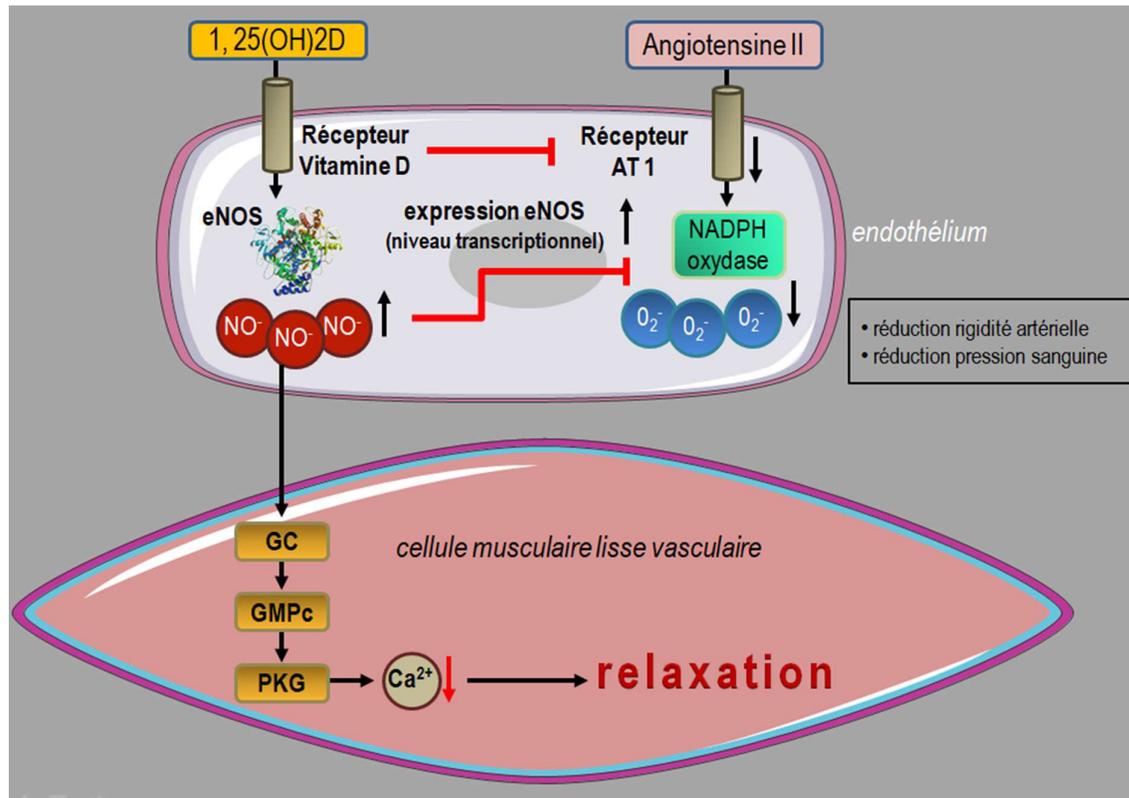
l'expression de ces VDRE sera activée ou réprimée au sein des régions promotrices des gènes (Landrier et al., 2016; Zhong et al., 2014). Etant donné le lien établi dans la littérature entre la déficience / carence en VD et de nombreuses maladies chroniques extra osseuses, telles que les maladies cardiovasculaires; l'identification du VDR au sein des cardiomyocytes et des cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires, justifie l'intérêt suscité par l'intrigante relation de la VD avec le système cardiovasculaire (Al Mheid and Quyyumi, 2017).

La littérature a démontré que la VD exerce des effets significatifs et positifs au niveau du statut inflammatoire (Colotta et al., 2017) avec des effets protecteurs sur la fonction endothéliale vasculaire (Ertek et al., 2012; Sugden et al., 2008) alors que, des taux insuffisants de vitamine D ont été associés à une grande prévalence de maladies cardiovasculaires (Anderson et al., 2010; Wang et al., 2012).

De manière intéressante, une étude de cohorte prospective conduite par Juonala et al. (Juonala et al., 2015) auprès de plus de 2000 sujets suivis de l'enfance (3-18 ans) à l'âge adulte (30-45 ans), a montré que des faibles taux de 25(OH)D mesurés pendant l'enfance, étaient associés à une augmentation des valeurs de l'EIM à l'âge adulte. Depuis la découverte de la présence de VDR au sein des cellules musculaires lisses vasculaires (Merke et al., 1989), des études expérimentales (notamment sur des modèles de souris KO-VDR) ont rapporté qu'une diminution de l'expression de VDR ainsi que la synthèse locale de calcitriol peuvent expliquer le lien entre l'insuffisance en VD et la dysfonction endothéliale (Ni et al., 2014a).

Les actions cardio-protectrices directes de la VD (Judd et al., 2008) sont possibles grâce à l'expression des VDR (Nagpal et al., 2005). Des études expérimentales ont démontré que la VD exerce des effets sur la dysfonction vasculaire et en contribuant à la régénération vasculaire (Wong et al., 2014; Zhong et al., 2014). L'expression et la fonction de VDR au sein de l'endothélium vasculaire dépendent des taux de calcitriol circulants via le couple calcitriol-

VDR) pour induire des fonctions biologiques en aval dans le système vasculaire (Figure 17). L'homéostasie de la fonction endothéliale dans sa relation aux maladies cardiovasculaires étant de première importance, l'activité protectrice du VDR au sein de l'endothélium vasculaire justifie l'intérêt porté à la VD, et ouvre des perspectives prometteuses pour des applications cliniques.



**Figure 17.** Rôle de la vitamine D au niveau de l'endothélium vasculaire. Schéma adapté (Schulz et al., 2014).

Le métabolite de la vitamine D, le 1,25 dihydroxyvitamine D (1,25 (OH)<sub>2</sub>D), se lie au récepteur endothélial de la vitamine D (VDR) et augmente l'activité et l'expression de la NO synthase endothéliale. En conséquence, la production de NO est augmentée de même que la signalisation intracellulaire, avec une activation de la kinase dépendante du GMPc. L'activation de la stimulation du VDR inhibe également l'expression du récepteur de type 1 (AT1) de l'angiotensine II, ce qui entraîne une moindre activation du complexe enzymatique membranaire nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase des muscles

endothéliaux et lisses, une des sources de superoxydes la plus importante du système circulatoire. Il a également été démontré que NO est un puissant inhibiteur de la NADPH oxydase, ce qui peut expliquer en partie pourquoi l'activation du VDR diminue le stress oxydatif vasculaire. GC, guanylate cyclase ; GMPc, guanosine monophosphate cyclique ; PKG, protéine kinase G, dont l'activité est dépendante du niveau de GMPc.

## **2.4.2 Obésité infantile et vitamine D**

Les enfants obèses sont particulièrement exposés au risque de déficience en VD (Reinehr, 2007 ; Alemzadeh 2008 ; Valeswaran, 2013), et ce phénomène de déficience a atteint des niveaux épidémiques qui inquiètent l'ensemble des autorités publiques dans le monde. Cette déficience en relation avec la sévérité de l'obésité (Ciedel 2015), est plus présente chez les enfants plus âgés (Moore 2016) et chez les enfants obèses pubères par rapport aux pré-pubères (Gutierrez 2014).

Les facteurs explicatifs de risques de la déficience en VD chez les enfants obèses comprennent des facteurs d'ordre général, puis des facteurs spécifiques à l'obésité.

### ***2.4.2.1 Facteurs d'ordre général***

La faible exposition au soleil en raison d'un mode de vie sédentaire et de « more cover-up, ainsi que moins d'activités à l'extérieur expliquent en grande partie la déficience en VD des enfants obèses (Braegger et al., 2013; Savastano et al., 2017a). Par ailleurs, on sait que la couverture des besoins en VD est difficile à atteindre par l'alimentation (Maillot et al., 2009a). En effet, comme discuté auparavant, il s'agit d'une vitamine présente dans peu d'aliments vecteurs (poissons gras) et souvent peu consommés, notamment par les enfants obèses. Le rapport de

l'INCA 3 (2017) rapporte ainsi que les apports journaliers en VD chez les adolescents entre 11 et 17 ans sont en moyenne de 2.9 (+1.7) µg/j, bien en-deçà des recommandations de l'ANSES chez l'enfant de 10 µg/jour. A l'heure de la mondialisation de produits alimentaires à forte densité énergétique, le problème de la qualité nutritionnelle se pose dans l'offre alimentaire. C'est l'exemple des laits (premier vecteur des apports en VD chez l'enfant et l'adolescent) pour lesquels les agriculteurs et la recherche questionnent les marchés de manœuvre pour de meilleures productions laitières selon les saisons afin d'obtenir des teneurs augmentées de vitamine D (Weir et al., 2017).

#### ***2.4.2.2 Facteurs spécifiques à l'obésité***

La déficience en VD en raison 1) d'un phénomène de séquestration de la vitamine D dans le tissu adipeux, et 2) d'une dilution volumique de la vitamine D3 sont des phénomènes qui ont été largement décrits dans la littérature (Hollis, 2005). L'expansion du tissu adipeux constituerait un réservoir plus important de stockage de VD et/ou 25(OH)D aboutissant à une diminution des taux plasmatiques de 25(OH)D (Wortsman et al., 2000). Par ailleurs, Drincic et al (Drincic et al., 2012) ont remis en cause l'hypothèse de la séquestration dans le tissu adipeux pour proposer l'hypothèse de la dilution volumique. Les auteurs ont mis en évidence que la relation entre la faible concentration de 25(OH)D et le volume total des individus était plus forte que celle avec la quantité de masse grasse.

Ces facteurs peuvent ainsi contribuer au faible statut de vitamine D chez les enfants obèses (Hosseini-zhad and Holick, 2013; Nesby-O'Dell et al., 2002; Savastano et al., 2017b).

### **2.4.3 Vitamine D, obésité infantile et complications métaboliques et vasculaires**

La déficience en VD a été associée à l'augmentation de prévalence du syndrome métabolique et des différents facteurs qui le constituent chez les enfants obèses (Challa et al., 2015; Fu et al., 2018).

Une récente méta-analyse rapporte une association inverse forte entre taux de vitamine D et risque cardio-vasculaire (Wang et al., 2012), risque augmenté dans le contexte de l'obésité. Cette association chez l'adulte est confirmée chez l'enfant obèse (Campos et al., 2015). Des études ont montré que les adipocytes expriment le VDR et toutes les enzymes nécessaires au métabolisme de la vitamine D (Abbas 2017), le tissu adipeux humain est ainsi capable de convertir la vitamine D en sa forme active (Wamberg et al., 2013). Celle-ci pourrait favoriser une augmentation de la lipogenèse ainsi qu'une diminution de la lipolyse (Shi et al., 2001). A partir de la cohorte d'enfants de 6 à 18 ans du National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006 (n = 2492), Moore et Liu (Moore and Liu, 2016) ont rapporté que la déficience en VD est fortement liée aux marqueurs d'adiposité (masse grasse, tour de taille, IMC) indépendamment du sexe. Cette relation est également présente chez des adolescents obèses (Cediel et al., 2016).

Des études récentes rapportent une association entre le déficit en VD et la dyslipidémie chez les enfants obèses (Censani et al., 2018; Fu et al., 2018; Kardas et al., 2013) Ainsi, les enfants obèses avec une déficience en VD (<20ng/mL) présentent des taux plus élevés de non-HDL cholestérol, cholestérol total, LDL-choestérol, triglycérides et des rapports TG/HDL et TC/HDL supérieurs par rapport aux enfants obèses avec des taux de 25(OH)D >20ng/mL (Censani et al., 2018). Ainsi, Lee et al (Lee et al., 2016) ont rapporté qu'une augmentation

d'environ 10 mg/dl de TC ou de non-HDL-C était associée à une diminution approximative de 1.3% de 25(OH)D.

La majorité des études rapporte que la déficience en VD chez les enfants obèses est associée à une faible sensibilité à l'insuline (Reyman et al., 2014) ou à la résistance à l'insuline (Alemzadeh et al., 2008a; Reyman et al., 2014; Wang et al., 2016). Quelques études ne rapportent pas cette association. Ainsi les adolescents obèses qu'ils soient normo-glycémiques, intolérants au glucose ou bien diabétiques de type 2 présentent des statuts en VD similaires (de las Heras et al., 2013). Pourtant, cette relation déficience VD et IR a déjà été rapportée aussi bien chez les enfants obèses prépubères que chez les pubères (Cediel et al., 2016; Reyman et al., 2014) La question se pose quant à l'influence de la méthode d'évaluation de l'insulino-résistance sur ces résultats (test clamp euglycémique hyperinsulinémique vs HOMA-IR). D'après Cediel et al. (Cediel et al., 2016) les enfants obèses avec une déficience en VD (<30ng/ml) présenteraient un risque d'insulino-résistant multiplié par 3 à 4 fois.

Le faible taux de VD chez les enfants obèses est associé à l'inflammation chronique de bas grade (Codoñer-Franch et al., 2012c; Reyman et al., 2014; Singh et al., 2015c) et aux marqueurs de stress oxydant (Codoñer-Franch et al., 2012c; Lee et al., 2016). Par une analyse en régression multiple confirmée par une analyse en cluster, les enfants obèses déficients en VD présentaient des taux plus élevés de cathepsine-S, sVCAM (pour soluble vascular cell adhesion molecules) et de chimérines (Reyman et al., 2014).

Peu d'études se sont intéressées à la relation entre le statut en VD et la fonction vasculaire chez l'enfant obèse. Le déficit en VD a été associée à des marqueurs de dysfonction vasculaire chez l'enfant obèse (Codoñer-Franch et al., 2012c). Par contre, il n'a pas été démontré d'association entre déficit en VD et dysfonction endothéliale à partir des évaluations de la vasodilatation médiée par le flux (« flow-mediated dilatation » ou FMD) (Javed et al.,

2015a; Pacifico et al., 2011a). Dans le même sens, les résultats sur la relation entre déficit en VD et augmentation de la rigidité carotidienne ou l'épaisseur Intima-Média (Intima-Media Thickness ou IMT) sont controversés chez l'enfant obèse (Ashraf et al., 2014; Atabek et al., 2014; Pacifico et al., 2011a). Autant chez l'adulte, la relation VD-hypertension est bien décrite, autant chez l'enfant, elle reste controversée (Kardas et al., 2013; Moore and Liu, 2017).

Enfin de manière intéressante, un taux inadéquat en VD semble être un facteur limitant de la performance et de la force musculaire. Ceci est particulièrement rapporté chez la personne âgée (Cipriani et al., 2014). Chez les enfants, un taux faible de 25(OH)D a été associé à une diminution de la force musculaire, à une diminution des performances de saut (vertical et en longueur) et d'agilité chez des jeunes garçons footballeurs (Bezrati et al., 2016). A noter que ces enfants n'étaient pas obèses.

### **3. Effets de différentes stratégies interventionnelles sur la fonction vasculaire chez l'enfant obèse**

Après avoir proposé une Stratégie mondiale pour l'alimentation, l'exercice physique et la santé en 2014, le rapport de l'OMS de 2016 (Mettre fin à l'obésité de l'enfant) souligne qu'aucune intervention ne peut à elle seule endiguer la progression de l'épidémie d'obésité. Pour combattre efficacement l'obésité de l'enfant, il faut agir sur l'environnement obésogène et sur des éléments critiques aux différentes étapes de la vie. ». Traiter les enfants obèses devient une priorité pour améliorer leur santé présente et future.

Dans le même sens, le rapport de la Haute Autorité de Santé pour les recommandations de bonnes pratiques pour la prise en charge du surpoids et obésité de l'enfant et de l'adolescent

(HAS, 2011) note qu'une prise en charge efficace doit prendre en compte l'alimentation, l'activité physique, la lutte contre la sédentarité, l'équilibre des rythmes de vie, dont le sommeil, et les aspects psychologiques et socio-économiques. Les résultats de la littérature ont permis de démontrer le rôle crucial de l'activité physique et d'un mode de vie actif dans le contrôle pondéral (Strasser, 2013). Dans la dernière décennie, l'intérêt suscité par les effets potentiels d'une supplémentation en VD, en complément de la prise en charge traditionnelle des enfants et adolescents obèses, a ouvert de nouvelles perspectives de recherches.

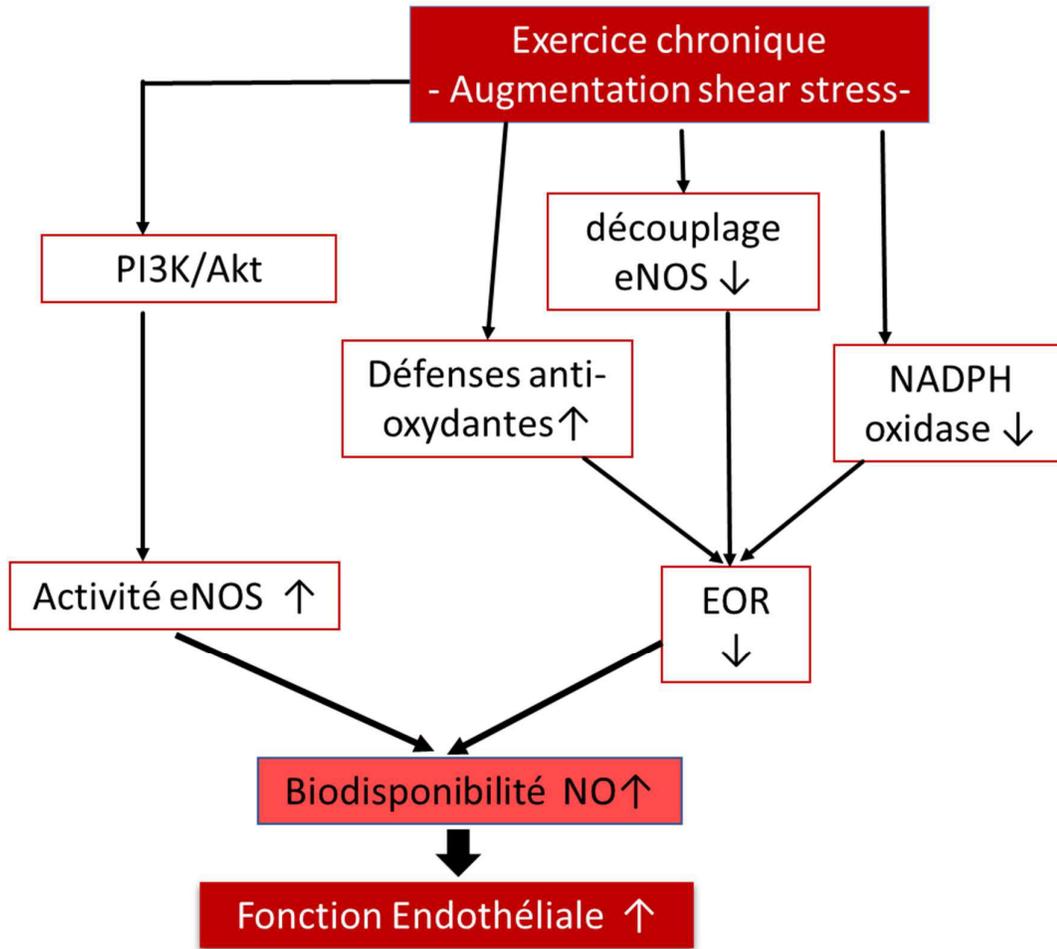
L'activité physique fait partie intégrante du traitement de l'obésité à tous les stades de sa prise en charge. Cette stratégie d'augmentation de l'activité physique est associée à la diminution des comportements sédentaires, à la gestion du sommeil, à un programme nutritionnel, à une prise en charge psychologique et à une éducation thérapeutique. Néanmoins, l'activité physique comme seule stratégie de prise en charge a déjà démontré des effets bénéfiques chez les obèses (Tjønnå et al., 2009). Dans ce chapitre, seules les études s'intéressant aux effets vasculaires de l'activité physique associée ou non à une diète seront discutés. Seront également discutés les différents effets d'une supplémentation en VD dans la prise en charge de l'obésité infantile.

### **3.1 Effets de l'exercice chronique sur la fonction vasculaire (en général)**

Les données de la littérature indiquent clairement le double rôle de l'exercice dans la prévention et le traitement de la dysfonction endothéliale. L'exercice est en effet capable de préserver l'intégrité de la fonction endothéliale chez les sujets à risque cardiovasculaire mais aussi de corriger la fonction endothéliale altérée et ce, dans les différents territoires vasculaires (artères

de conductance et de résistance) (Pellegrin et al., 2009). En effet, l'exercice chronique induit des adaptations périphériques avec des changements au niveau des propriétés morphologique, biomécanique et fonctionnelle de la paroi vasculaire (Schuler et al., 2013). En effet, l'hyperhémie répétée de l'exercice accroît les contraintes de cisaillement exercées au niveau de la paroi vasculaire entraînant une synthèse importante de substances vasodilatatrices et principalement de monoxyde d'azote (NO) via une activité augmentée de l'endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) (Uematsu et al., 1995) (*Figure 18*). L'activité physique répétée, permet également de limiter la production d'espèces réactives oxygénées (EOR), notamment, en réduisant l'expression des sous-unités de la NADPH oxydase, limitant ainsi son activité (Duerschmidt et al., 2006) et en augmentant les défenses antioxydantes vasculaires (telles que superoxide dismutase (SOD), le glutathione peroxidase, ainsi que les niveaux de GSH). L'exercice est aussi capable de prévenir le « découplage » de la eNOS avec un effet de l'exercice sur le cofacteur BH4, par exemple.

Ces différents mécanismes conduisent à une plus grande biodisponibilité du NO et une amélioration de la fonction endothéliale. Cette production chronique de NO serait à l'origine d'une augmentation du calibre artériel. En effet, ce remodelage vasculaire permettrait de normaliser les contraintes de cisaillement et de ramener ainsi la fonction endothéliale à son niveau d'activité initiale (Green et al., 2004). En outre, au-delà de l'agrandissement du diamètre artériel, l'exercice physique régulier engendre une diminution de l'épaisseur intima - média (Dinunno et al., 2001). Ce remodelage vasculaire contribue à l'amélioration de la compliance artérielle (Kingwell et al., 1995) et à la réduction des pressions artérielles (Whelton et al., 2002).



**Figure 18.** Adaptation vasculaire à l'exercice chronique.

Schéma adapté selon (Schuler et al., 2013)

### 3.2 Effets vasculaires de l'exercice chronique chez enfant obèse

Relativement peu d'études ont été consacrées à évaluer les effets d'une prise en charge associée ou non à un programme de réentraînement à l'effort sur la fonction vasculaire au niveau macro et microcirculatoire chez les adolescents obèses.

Dengel et al (Dengel and Ryder, 2017) ont réalisé une revue sur les effets macrovasculaires de l'exercice chez l'enfant obèse.

**Tableau 4.** Effets vasculaires de l'exercice physique chez les enfants et adolescents obèse d'après Dengel et Ryder (2017)

The Effect of Exercise Training Interventions on Vascular Structure and Function.					
Interventions	Participants	Vascular Function	Vascular Structure	Arterial Stiffness	Reference
Aerobic 3×/week; 60 min/session	Obese children (BMI >97th percentile)	FMD ↔ EID ↔	cIMT ↔	cIEM ↔	63
Aerobic 4×/week; 30-50 min/session	Overweight children (BMI >85th percentile)	FMD ↑ EID ↔			22
Aerobic 3×/week; combined circuit training and aerobic exercise	Obese adolescents (BMI >95th percentile)			PWV ↔	68
Aerobic 3×/week; 60-90 min	Obese adolescents (BMI >97th percentile)	FMD ↑	cIMT ↓		64
Resistance 2×/week	Healthy adolescents	FMD ↑		PWV ↓	72
Combined resistance and aerobic exercise 3×/week; 80 min/session	Overweight adolescents		cIMT ↓		67
Circuit training 3×/week; 60 min/session	Obese adolescents	FMD ↑			65
Aerobic 3×/week; 60 min/session	Obese children	FMD ↑			66
Combined exercise and weight loss program over 1 year	Obese adolescents		cIMT ↓		73
Combined aerobic and games 60 min/session; 3×/week	Obese adolescents	FMD ↑	cIMT ↔		71
Combined aerobic and weight loss for 6 weeks	Obese children	FMD ↑			70
Aerobic exercise 4 × 4 min high-intensity interval training 2×/week for 3 months	Overweight adolescents	FMD ↑			69

IMC, indice de masse corporelle ; FMD, vasodilatation flux-dépendante ; EID, vasodilatation endothélium indépendante ; cIMT, épaisseur intima-média carotidienne ; cIEM, rigidité artérielle carotidienne ; PW, vitesse d'onde de pouls.

Depuis, la littérature a permis de clarifier et confirmer ces différents résultats.

### *3.2.1.1 Sur le plan morphologique*

Dans leur méta-analyse incluant 6 études randomisées contrôlées (303 enfants obèses entre 6 et 17 ans) sur les effets de l'exercice supervisé (sans diète associée) sur l'EIM carotidienne, Garcia-Hermoso et al. (García-Hermoso et al., 2017) ont rapporté que l'exercice réduisait l'EIM ( $g=-0.306$ ; 95% CI -0.540 to -0.072;  $p = 0.011$ ) chez des enfants obèses. Le nombre de minutes d'exercice /semaine apparaît comme un facteur important de cette diminution de l'EIM. Cette réduction de l'EIM avec l'exercice chez l'enfant obèse est en relation avec la diminution de l'inflammation (Cayres 2016).

### *3.2.1.2 Sur le plan biomécanique*

Des études récentes (Chuensiri et al., 2018; Horner et al., 2015) ont rapporté soit une diminution de la rigidité artérielle soit une absence de changement après 3 mois d'exercice aérobie chez l'enfant obèse prépubère ou l'adolescent, respectivement. Les différences d'intensité d'exercice peuvent en partie expliquer ces résultats divergents. Des exercices à haute intensité semblent être nécessaires pour engendrer une amélioration de compliance artérielle (Chuensiri et al., 2018).

### *3.2.1.3 Sur le plan fonctionnel*

La méta-analyse de Dias et al. (Dias et al., 2015), incluant 6 études pré-post sur les effets de programmes d'exercice sur FMD ( $n=219$  adolescents obèses), a démontré que des programmes interventionnels à base d'exercice physique améliorent la fonction endothéliale macrovasculaire avec une augmentation moyenne de 1.54% (95% CI 0.24 to 2.84) du FMD.

Peu d'études, en revanche, ont évalué les effets d'une prise en charge au niveau microcirculatoire et au niveau des deux territoires, macrocirculatoire et microcirculatoire, chez

l'enfant obèse. Après 4 mois d'intervention incluant 4 sessions d'entraînement de 90 minutes par semaine basées sur des activités physiques ludiques à dominante aérobie, aucune amélioration de la fonction vasculaire au niveau macro et microcirculatoire n'était notée chez l'adolescent sévère (Montero et al., 2014a). Ces résultats contrastés peuvent s'expliquer par la méthode d'évaluation utilisée et le site où les mesures sont effectuées. Plus d'études avec des méthodes standardisées sont nécessaires pour établir un consensus en la matière.

La difficulté d'augmenter le niveau d'activité physique dans la population générale et les populations à risques dans le but de prévenir des maladies cardiovasculaires interroge le bien fondé des modes d'entraînements traditionnels et des protocoles proposés. Si la majorité des personnes est disposée à suivre les prescriptions d'entraînement définies au sein de protocoles d'études ; les données de la littérature font apparaître que l'adhésion à des programmes d'entraînements supervisés diminue dès les phases initiales d'entraînement ; et seuls 40% des personnes ayant adhéré à des programmes supervisés maintiendront leur activité physique dans leur quotidien trois ans après (Schuler et al., 2013).

### **3.3 Modalités de réentraînement à l'effort**

La réussite de la prise en charge de l'enfant obèse repose sur la stabilisation de la masse corporelle par la pérennisation d'une pratique physique et d'une alimentation adaptée à long terme. Le point-clé est que les enfants continuent de pratiquer après le traitement (INSERM, 2008).

Une meilleure connaissance de la charge quantitative et qualitative nécessaire pour un meilleur contrôle pondéral et une meilleure santé notamment vasculaire chez l'enfant obèse devient indispensable. L'un des enjeux actuels pour l'amélioration de la prise en charge de

l'obésité infantile consiste aujourd'hui à élaborer des recommandations spécifiques de bonnes pratiques, reposant sur des stratégies réalisables pour la perte de poids et la prévention du regain de poids.

Comme souligné dans la position de consensus sur l'AP et obésité chez l'enfant (Duclos et al., 2013), ces bonnes pratiques doivent prendre en compte les goûts individuels, l'accessibilité des sites d'activité physique, le caractère de l'encadrement et les financements possibles. La prescription de l'AP sera qualitative (nature des exercices, intensité) et quantitative (fréquence, durée des exercices). Tout programme devra ainsi débiter par une évaluation initiale.

### **3.3.1 L'évaluation de la capacité aérobie : un préalable avant la programmation d'un réentraînement chez les enfants obèses.**

Différents tests validés auprès des enfants obèses permettent d'évaluer la condition physique des enfants obèses. Parmi eux le test de courses navettes de Léger ou le test de marche/course de 12 minutes sont les plus utilisés, car reproductibles, faciles à mettre en place, et peu coûteux (Quinart et al., 2014). Bien que le test navette soit largement répandu, il consiste à réaliser des allers-retours sans interruption impliquant des changements soudains de direction et entraînant des coûts énergétiques élevés ainsi que des douleurs musculo-squelettiques (Thivel et al., 2017). Ces facteurs sont susceptibles d'entraîner une aggravation de la perception de l'effort et peuvent conduire à une interruption prématurée du test chez les enfants obèses. En 2009, Rossi et al. (Rossi et al., 2009) ont mis au point un nouveau test d'évaluation maximale de l'aptitude aérobie des enfants dans le milieu scolaire. Ils ont rapporté une bonne reproductibilité (Thivel et al., 2017) et une meilleure adaptabilité au regard des caractéristiques

spécifiques du public jeunes obèses (Rey et al., 2016). Ce test intermittent appelé «Spartacus», est composé de plusieurs phases progressives d'efforts, entrecoupées par des périodes de repos passif; et permet aux enfants obèses d'atteindre une vitesse maximale moyenne 20% supérieure à celle observée lors d'un test navette, en obtenant de surcroît une fréquence cardiaque maximale et un seuil de perception de l'effort identiques (Rey et al., 2016). Ce test aux résultats prometteurs et plus approprié que les tests traditionnels pourrait constituer une véritable alternative de test chez les enfants obèses.

### **3.3.2 Quelle(s) modalité(s) de réentraînement à l'effort chez les enfants obèses ?**

Traditionnellement, chez l'enfant obèse, l'exercice en mode aérobie de type modéré continu (MCT), est l'approche la plus courante recommandée pour améliorer la composition corporelle, la capacité physique et les paramètres généraux liés à la santé (Lau et al., 2015). Cependant, la durée totale de cette forme d'exercice doit être suffisamment longue pour induire les effets souhaités ; alors même que la durée importante d'un exercice, constitue l'une des raisons principales d'un manque d'adhésion à l'activité physique, à cause de sa monotonie (Coquart et al., 2008). Très récemment, la méta-analyse de Garcia-Hermoso (García-Hermoso et al., 2016), incluant 9 essais de recherche cliniques menés chez 274 jeunes obèses âgés de 6 à 17 ans, a démontré la plus grande efficacité des programmes interventionnels incluant des programmes d'activités physiques de type intermittent intense (HIIT, 25 ± 5 min de durée moyenne par session) pour améliorer la VO<sub>2</sub>max et la pression artérielle systolique en comparaison avec des programmes de type MCT ; les auteurs soulignent que ces résultats ont été obtenus avec une durée totale d'exercice inférieure à celle de l'entraînement MCT (García-Hermoso et al., 2016). Les études comparant les effets vasculaires (i.e FMD) de ces deux

modalités d'exercice (HIT et MCT) chez l'adulte avec une dysfonction endothéliale préalable ont été compilées dans une méta-analyse (Ramos et al., 2015). Seuls Tjonna et al. (Tjønnå et al., 2009) se sont intéressées à comparer les effets vasculaires de différents programmes d'exercice chez les enfants obèses. Ils rapportent une amélioration de la fonction macrovasculaire après un programme interventionnel incluant un entraînement HIIT (deux sessions/semaine) sans consignes particulières de diététique vs un programme multidisciplinaire. A notre connaissance, aucune étude n'a encore comparé les effets microvasculaires de HIIT et MCT chez les jeunes obèses. Il y a un véritable intérêt à déterminer si différentes modalités de réentraînement à l'effort sur des durées plus longues et/ou plus intenses, peuvent améliorer la fonction vasculaire dans les deux territoires vasculaires et ainsi améliorer la santé vasculaire présente et future des enfants obèses.

### **3.4 Effets d'une supplémentation en vitamine D**

#### **3.4.1 Quelle dose de VD est nécessaire pour retrouver un niveau satisfaisant en VD ?**

Comme discuté dans le paragraphe précédemment, un niveau satisfaisant en VD chez l'enfant-adolescent correspond à une concentration en 25(OH)D  $>50\text{nmol/L}$  ou  $\geq 75\text{nmol.L}(=30\text{ng/ml})$  (ANSES, 2016).

##### ***3.4.1.1 Recommandations de la supplémentation en VD en population générale***

Afin de couvrir les besoins en VD difficiles à atteindre par l'alimentation, la littérature rapporte que la supplémentation en vitamine D2 (ergocalciférol) ou D3 (cholécalfiférol),

constitue une bonne alternative pour retrouver des niveaux satisfaisants (Maillot et al., 2009b)). Récemment, une étude a montré que les deux formes (VD2 ou VD3) ont une biodisponibilité équivalente, qu'elles soient apportées par un jus d'orange ou par des capsules (Biancuzzo et al., 2010a). D'après la méta-analyse de Holick et al. (Holick et al., 2011), les seuils de tolérance acceptables d'une supplémentation en VD sans surveillance pour les enfants âgés de 1 à 18 ans déficients en vitamine D, sont de 2000 UI/jour de VD2 ou de VD3 pendant au moins 6 semaines ; ou bien une dose unique de 50 000 UI de VD2 une fois par semaine pendant au moins 6 semaines afin d'atteindre des taux sériques de 25(OH)D au-dessus de 30 ng/ml, suivi d'un traitement de maintien avec 600-1000 UI/jour. Chez les patients obèses, une dose plus élevée est toutefois recommandée (deux à trois fois supérieure), allant de 6000 à 10 000 UI / jour de VD, pour traiter la carence en VD et afin de maintenir une concentration sérique de 25(OH)D supérieure à 30 ng/ml ; le traitement devrait être suivi d'une thérapie d'entretien de 3 000 à 6000 UI/jour (Boonchaya-anant et al., 2014; Holick et al., 2011). Dans le même sens, Drincic et al. (Drincic et al., 2012) ont comparé les réponses à une supplémentation de VD à 3 doses différentes (1000, 5000 et 10 000 UI/jour pendant 21 semaines) chez des adultes obèses et des normo-pondérées. Ils ont rapporté que la réponse à la supplémentation était en relation avec la dose et la masse corporelle. Ils ont ainsi proposé d'adapter la dose de VD à la masse de la personne : pour engendrer une augmentation de 1ng/mL de 25(OH)D, la dose préconisée serait de 2.5 UI/kg.

#### *3.4.1.2 Recommandations spécifiques en supplémentation en VD chez les enfants obèses*

Bien que l'Institute of Medicine (IOM) préconise qu'une dose de 4000 UI par jour doit constituer l'apport maximal acceptable pour des enfants de plus de 9 ans (Ross et al., 2011), il

n'existe pas, à ce jour, de consensus pour définir les doses journalières recommandées chez les enfants et les adolescents obèses déficients en VD. D'autres études sont nécessaires afin de statuer sur les doses optimales de supplémentation en fonction des publics. De manière intéressante, l'étude de Belenchia et al. (Belenchia et al., 2013) menée auprès d'adolescents obèses, a rapporté qu'une supplémentation en VD3 à raison de 4000 UI par jour était une dose efficace et bien tolérée pour corriger une insuffisance en VD chez des adolescents obèses (Belenchia et al., 2013). La littérature rapporte en outre que les adolescents présentent un risque accru d'insuffisance en VD (Gutierrez 2014). La « Society for Adolescent Health and Medicine » recommande ainsi une supplémentation continue de VD (600 UI/ jour pour les adolescents en bonne santé et au moins 1000 UI/jour pour les adolescents exposés à des risques de carence VD tels que les adolescents obèses en plus des apports naturels de VD via l'alimentation et l'exposition au soleil (Saggese et al., 2018).

### **3.4.2 Effets d'une supplémentation en VD sur les anomalies métaboliques, l'inflammation et la fonction vasculaire**

La littérature rapporte que le statut en VD est associé à la résistance à l'insuline (Kayaniyil et al., 2010; Pittas et al., 2007). L'effet direct de la VD proviendrait de la liaison de la forme active circulante de la VD, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D, avec son récepteur au niveau des cellules bêta. L'effet direct de la VD pourrait également provenir de l'activation de la VD au niveau des cellules bêta et liée à l'activité de l'enzyme 1-alpha-hydroxylase, comme cela a été récemment rapporté dans la littérature (Bland et al., 2004). Les effets indirects de la VD sur l'insuline peuvent, quant à eux, être expliqués par l'action de la VD au niveau de la régulation du calcium extracellulaire et du flux de calcium à travers la cellule bêta ; où l'augmentation de l'activité de

la 1,25 (OH) 2D va se traduire par une augmentation de l'expression du récepteur à l'insuline, la synthèse et la libération d'insuline (Teegarden and Donkin, 2009a).

Ces différents mécanismes devraient permettre une diminution de l'insulino-résistance suite à une supplémentation en VD, tel que cela a été démontré dans les études expérimentales (Marcotorchino et al., 2012; Mitri et al., 2011). Pour autant la méta-analyse récente de Jamka et al (2015) chez l'adulte obèse a conclu à l'absence d'effet significatif d'une supplémentation en VD sur le HOMA-IR (9 études, std différence : 0.04; 95% CI: - 0.44, 0.52; p = 0.86). Chez l'enfant obèse, Javed et al. (Javed et al., 2015b) n'ont pas permis de conclure qu'une supplémentation en VD, quelle que soit la dose (400 ou 2000 UI par jour), puisse avoir des effets positifs significatifs sur la fonction bêta et l'action de l'insuline chez des adolescents obèses ne présentant pas de complications et ayant un taux initial de 25(OH)D à 24µg/L à l'inclusion. A l'inverse, l'équipe de Belenchia et al. (Belenchia et al., 2013) a montré qu'une supplémentation en VD3, sur la base de 4000 UI/ jour et pendant 6 mois, était efficace pour améliorer la sensibilité à l'insuline chez des adolescents obèses ayant un faible statut en VD. Des différences de concentrations initiales en 25(OH)D pourraient en partie expliquer ces divergences de résultats. En effet, Ashraf et al (Ashraf et al., 2014) ont proposé une concentration de 15 ng/mL comme valeur seuil ayant un impact sur la sensibilité à l'insuline.

Le rôle de la VD sur l'inflammation a été démontré dans la littérature (Guillot et al., 2010) qui rapporte des niveaux d'inflammation significativement plus élevés (Interleukine-6 ; Myeloperoxidase ; Malondialdehyde) chez des adolescents obèses dont le statut en 25(OH)D était inférieur à 20 ng/mL (n = 20) (vs 25(OH)D > 20 ng/mL) (Codoñer-Franch et al., 2012c).

La littérature a par ailleurs démontré que la vitamine D était en mesure de favoriser un milieu anti-inflammatoire en réduisant l'expression et la libération de cytokines pro-inflammatoires. De manière intéressante, les cellules dendritiques, les macrophages, les monocytes ainsi que les

cellules T expriment à la fois le VDR et la 1- $\alpha$ hydroxylase. Des études expérimentales ont démontré que le calcitriol permet d'augmenter la production d'interleukines anti-inflammatoires IL-10 et réduire l'expression du TNF $\alpha$ . La littérature a aussi rapporté une réduction de la production de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-8 sur les monocytes activés par le calcitriol. Il a été suggéré que ces actions anti-inflammatoires dépendantes de la VD incluent la régulation de NF- $\kappa$ B et la « down » régulation des cytokines pro-inflammatoires (Marquina et al., 2018).

En revanche, la méta-analyse récente de Jamka et al. (Jamka et al., 2015a) chez l'adulte obèse a conclu à l'absence d'effet significatif d'une supplémentation en VD sur certains biomarqueurs d'inflammation (CRP, TNF $\alpha$  et IL-6). Chez des adolescents obèses avec une déficience initiale en VD, ces mêmes marqueurs n'étaient pas significativement diminués suite à une supplémentation en VD3 à 4000 UI par jour pendant 6 mois (Codoñer-Franch et al., 2012c).

### **3.4.3 Effets de la VD sur la fonction vasculaire**

Les méta analyses récentes de Rodriguez et al (2016), Upala et al (2016), Hussin et al. (2017) et de Beveridge et al. (2018), réalisées auprès de populations adultes présentant des facteurs de risque cardiovasculaire, n'ont pas rapporté d'effets significatifs d'une supplémentation en VD sur la fonction macrovasculaire (compliance artérielle et FMD), mais un faible effet sur l'amélioration de la fonction microvasculaire a été rapporté. A noter que ce dernier résultat est basé sur seulement 3 études (Dreyer et al., 2014; Stricker et al., 2012; Witham et al., 2013)

Très peu d'études se sont intéressées aux effets vasculaires d'une supplémentation en VD chez l'enfant obèse. A notre connaissance, seuls Dong et al (2010) ont évalué les effets d'une supplémentation en VD3 à 2000 UI/jour pendant 16 semaines, chez des adolescentes de phototype foncé avec un taux initial de 25(OH)D à 34nmol/L, sur la rigidité artérielle. Aucun effet n'a été démontré. Chez des adolescents obèses, Javed et al.(Javed et al., 2015a) n'ont pas montré d'effets positifs significatifs d'un traitement en VD3 sur la fonction endothéliale (i.e FMD), après administration d'une monodose orale mensuelle de 100 000 UI pendant 3 mois.

En l'absence de consensus sur le sujet, d'autres études sont nécessaires afin de déterminer si la VD joue un rôle dans la régulation de cette fonction vasculaire, en ciblant notamment un statut en VD supérieur et des périodes de traitement prolongées (Alyami et al., 2014).

#### **3.4.4 Effets de la VD sur la performance physique**

Le lien entre le statut en 25(OH)D et performance sportive et/ou physique a déjà été montré dans la littérature, notamment chez les athlètes (Cannell et al., 2009). Dans une étude menée auprès de 125 enfants sains et actifs, un faible taux de 25(OH)D a également été associé à une diminution de la force ainsi qu'à une diminution des capacités de performance en saut et en sprint (Bezrati et al., 2016). Suite à un programme interventionnel incluant un entraînement en résistance et une supplémentation en VD (4000 UI/jour pendant 6 mois), des adultes obèses et déficients en VD ont amélioré leur puissance musculaire de façon plus importante que le groupe ayant suivi le même programme d'exercice avec placebo (Carrillo et al., 2013). Une étude randomisée en double aveugle menée auprès de 179 filles non obèses âgées de 10 à 17 ans, la supplémentation en VD pendant 1 an a été efficace quelle que soit la dose administrée

(200 UI/jour ou 2000 UI/jour) pour augmenter la masse musculaire (El-Hajj Fuleihan et al., 2006).

Si la déficience en VD semble limiter la performance physique, d'autres études sont nécessaires afin de vérifier si le retour à des valeurs normales de 25(OH)D après une supplémentation en VD est susceptible d'avoir un impact positif sur la capacité de performance physique chez les enfants obèses.

La prise en charge des enfants obèses doit prendre en compte l'alimentation, l'activité physique, la lutte contre la sédentarité, l'équilibre des rythmes de vie, dont le sommeil, et les aspects psychologiques et socio-économiques (HAS 2011). Elle englobe donc des programmes combinés de diététique et d'activité physique (Montero et al., 2012b; Ribeiro et al., 2005; Watts et al., 2004). Des programmes interventionnels de perte de poids, incluant un régime alimentaire seul ou un régime alimentaire associé à un programme d'activité physique, sans supplémentation en VD, ont engendré une augmentation significative de 25(OH)D chez les adultes obèses (Gangloff et al., 2015; Pannu et al., 2016). Dans ce sens, Tzotzas et al (2010) ont rapporté qu'une perte de poids de 10% permettait une augmentation de VD chez des obèses déficients en VD avant programme. Explorer si un programme de perte de poids (diète et exercice) combiné à une supplémentation en vitamine D entraînerait des bénéfices significatifs additifs représente un véritable enjeu en santé publique (Szlagatys-Sidorkiewicz et al, 2017).

## **4. Objectifs de la thèse**

**L'objectif général de ce travail de thèse a consisté à évaluer les effets de différents types de prise en charge d'adolescents obèses placés en institution pour une perte de poids en**

**specifiant les effets de différentes modalités d'exercice et d'une supplémentation en vitamine D.**

Les études menées ont été conduites selon deux approches :

→ Une approche transversale avec une comparaison des données anthropométriques, métaboliques, biologiques et vasculaires d'adolescents obèses et d'adolescents normo-pondérés appariés en sexe et maturation sexuelle.

→ Une approche longitudinale en précisant les effets des différentes prises en charge chez les adolescents obèses.

Deux études ont été réalisées dans le cadre de cette thèse :

La première étude répondait à une demande de l'Institut Saint Pierre, un établissement de soins de suite et de réadaptation (SSR) avec une unité de soins de traitement de l'obésité infantile et de l'adolescent, pour une amélioration de leurs pratiques professionnelles (étude enregistrée sur ISRCTN n°67155720). Dans ce cadre, cette première étude visait à évaluer les effets de différentes modalités de réentraînement à l'effort au cours du programme de perte de poids. Dans un premier temps, les réponses microcirculatoires chez des adolescents obèses ont été comparées à celles de témoins de poids normal. Puis l'étude a comparé les effets anthropométriques, métaboliques, de performance aérobie et microvasculaires d'un programme d'exercices intermittents à haute intensité (HIIT) à ceux d'un programme d'exercices continus modérés (MCT) de 3 mois.

La deuxième étude de thèse (étude VIDADO enregistrée sur Clinical Trial NCT02400151), réalisée dans le même SSR, était une étude interventionnelle chez des adolescents obèses, prospective, contrôlée, en double aveugle, randomisée en bras parallèles,

versus des témoins adolescents normo-pondérés. Dans un premier temps, les relations entre statut en vitamine D, marqueurs métaboliques et fonction vasculaire (macro- et microvasculaire) chez des adolescents obèses versus témoins de poids normal ont été explorées. Dans un deuxième temps, les effets d'un programme nutritionnel incluant une restriction calorique et des séances d'activités physiques combiné ou non à une supplémentation en vitamine D3 ont été analysées.

# **Organisation des études**

# **1. Matériels et méthodes**

## **1.1 Populations et critères d'inclusion**

Pour les deux études, deux groupes d'adolescents âgés entre 12 et 17 ans (groupe obèse et groupe témoin) appariés pour le sexe, la maturation sexuelle (au minimum stade 2 de Tanner) et le niveau de pratique physique (évalué par le volume horaire hebdomadaire de pratique sportive) ont été constitués. La participation à chacune des études a été proposée aux adolescents obèses lors de leur entrée à l'Institut Saint Pierre – SSR de Palavas-les-Flots (34), ainsi qu'aux adolescents témoins normo-pondérés recrutés par le biais de la Médecine Scolaire dans les collèges et lycées Nîmois (après accord de l'inspection d'Académie) par un appariement de fréquence en fonction de la représentation des âges et de la répartition garçons-filles des adolescents obèses.

Les adolescents obèses et témoins ne présentaient pas de contre-indication à la pratique d'une activité physique (articulaire, cardiaque ou autre). Aucun ne présentait de pathologie intercurrente, des antécédents au premier degré de pathologie cardio-vasculaire, des anomalies de la tolérance glucidique (diabète ou prédiabète), de tabagisme actif et de dyslipidémie (notamment hypercholestérolémie). Aucun ne consommait régulièrement de compléments alimentaires et vitaminiques, ni encore présentait un statut en vitamine D en dehors de la fourchette  $20 \text{ nmol/L} < 25(\text{OH})\text{D} < 100 \text{ nmol/L}$ .

Les adolescents obèses inclus présentaient un indice de masse Corporelle (IMC) correspondant à un stade 2 de l'obésité selon les courbes de Rolland-Cachera et al, 1991 (Rolland-Cachera et al., 1991).et un poids stable, les sujets en phase d'amaigrissement (réduction pondérale supérieure à 5 % du poids total au cours des trois mois précédant l'inclusion) n'étant pas inclus. Les adolescents témoins inclus avaient, quant à eux, un IMC

inférieur à la valeur correspondante à un degré 1 de l'obésité selon les courbes de Rolland-Cachera (Rolland-Cachera et al., 1991).

L'inclusion des adolescents obèses a débuté au moment de leur visite d'admission dans le centre, et les bilans ont été réalisés lors de 2 visites : V1 bilan d'admission, et V2 bilan de fin d'étude à 3 mois. L'inclusion des adolescents témoins de l'étude 2 a été réalisée avec un appariement en fréquence et en saison équivalente, le taux d'ensoleillement pouvant influencer sur le métabolisme de la vitamine D.

## **1.2 Programmes interventionnels**

Pour les adolescents obèses, les programmes interventionnels ont été mis en place au sein de l'ISP pour une durée de 3 mois et ont fait appel à une alimentation contrôlée et équilibrée et un programme d'activités physiques :

- Pour l'étude 1, deux types de réentraînement à l'effort (modéré continu et intensif intermittent) ont été comparés
- Pour l'étude 2-VIDADO, à la prise en charge habituelle, a été combinée une supplémentation en vitamine D3.

## **1.3 Programmes de réentraînement**

### **1.3.1 Programme en mode intensif intermittent**

Deux séances hebdomadaires consistaient à réaliser un circuit training de 2 à 3 minutes comprenant 5 exercices combinant des mouvements des membres supérieurs ou (et) des membres inférieurs. Le circuit training était réalisé 5 fois (+/- 1) à une intensité proche de 86 à 95% de la FC maximale. Entre chaque circuit, une récupération d'une durée de 1min15s à 1min30s en marche active à 50 et 60% de la FC maximale était effectuée. Une troisième séance hebdomadaire proposait la même charge d'entraînement à travers des ateliers de boxe éducative. Les durées totales de séances en mode intensif intermittent étaient d'environ de 23 ± 2min.

### **1.3.2 Programme en mode modéré continu**

Deux séances hebdomadaires consistaient à réaliser un parcours ludique de 200m en marche sportive type nordique à une intensité proche de 60 à 70 % de la FC maximale, pour des durées totales d'effort de proche de 50 ± 10min. Et une troisième séance consistait en une séance de boxe ludique à intensité modérée privilégiant la technique afin de respecter des FC d'effort comprises entre 60 à 70 % de la FC maximale.

## **1.4 Supplémentation en VD**

Les adolescents obèses ont été répartis par tirage au sort soit dans le groupe Supplémentation en vitamine D soit dans le groupe Placebo (logiciel INCLUSIO CHU de Nîmes). La dose journalière de 4000 UI de Vitamine D (UVEDOSE 100000 UI / 2 mL, Crinex laboratory, France) a été diluée dans le verre de jus de fruit (orange ou pomme) du petit déjeuner. Les recommandations françaises pour une population adulte sont de 600 à 800 UI/j. Nous avons proposé chez l'adolescent obèse des doses correspondant à 4000 UI/j selon les études récentes de Belanchia et al (Belanchia et al., 2013) et Holick (Holick, 2013). Dans l'étude de Belanchia et al (2013), chez des adolescents obèses, les taux de 25 (OH)D plasmatiques étaient corrigés après une supplémentation de 6 mois, à la dose de 4000 UI/j, sans effet secondaire rapporté.

## **1.5 Enquête alimentaire**

Une enquête alimentaire sur une période de 3 jours consécutifs a été réalisée et analysée par des diététiciennes (Annexe 1). Les apports nutritionnels habituels, évalués à l'aide d'un questionnaire sur ses habitudes alimentaires avec une analyse des apports journaliers en vitamine D et en calcium ont également été notés (Annexe 2).

## **1.6 Evaluation des paramètres anthropométriques**

Le bilan anthropométrique a été déterminé à partir d'une évaluation de la composition corporelle par absorptiométrie biphotonique à rayons X (Service de Médecine Nucléaire –

appareil : HOLOGIC QDR 2000 – Discovery). Cette technique à double source de rayonnement X très peu irradiante, a permis de mesurer les masses maigre, grasse et osseuse (en grammes et en pourcentage) des adolescents participants aux études. L'IMC (Poids/Taille<sup>2</sup>, en kg.m<sup>-2</sup>) et l'IMC-Z score ont également été calculés (Rolland-Cachera et al., 1991).

## **1.7 Bilan biologique**

Un **bilan sanguin à jeun** a été réalisé avec un prélèvement de 40 ml chez tous les adolescents (sauf pour les adolescents témoins de l'étude 1).

### **1.7.1 Evaluation du profil glucido-lipidique (études 1 et 2)**

Un bilan glucido-lipidique a permis d'évaluer les valeurs de glucose, HbA1C, triglycérides, cholestérol, LDL-C, HDL-C ; et la résistance à l'insuline a été évaluée à l'aide d'un indice indirect : HOMA-IR (Matthews et al., 1985a) qui repose sur la glycémie et l'insulinémie à jeun ( $HOMA-IR = \frac{[fasting\ insulin\ (uIU/mL) \times fasting\ glycemia\ (mmol/L)]}{22.5}$ ).

### **1.7.2 Evaluation du statut inflammatoire (étude 2)**

Les évaluations du statut inflammatoire (CRPus, IL-6, leptine, adiponectine, TNF $\alpha$ ) ont été réalisés dans les deux populations d'adolescents obèses et témoins de l'étude 2.

### **1.7.3 Evaluation du statut en vitamine D**

Les paramètres du statut en vitamine D suivants ont été mesurés : 25(OH)D,, parathormone (PTH) et calcium.

## **1.8 Evaluation de l'aptitude physique (études 1 et 2)**

Un questionnaire Activités Physiques et Sportives mis en place par l'Institut Saint Pierre (score 0 à 14) a été renseigné à l'entrée, puis à la sortie du centre. Les adolescents obèses ont réalisé un test navette de 20m (Léger and Lambert, 1982) . Le nombre d'allers-retours effectués lors du test, la fréquence cardiaque maximale ainsi que la perception de l'effort (Borg, 1982) à chaque palier ont été notés. Pendant les séances (étude 1), les adolescents étaient munis de Polar S810 afin de contrôler l'intensité. A la fin de leur prise en charge interventionnelle, les adolescents ont également renseigné une échelle de motivation à la pratique physique à des fins de santé (Boiché et al., 2016) pour mieux les orienter vers la pratique de telle ou telle activité physique à leur sortie du SSR.

## **1.9 Bilan de pigmentation de la peau (étude 2)**

L'absorption de la Vitamine D est en effet dépendante de la pigmentation de la peau, la mélanine empêchant les photons UVB d'atteindre le 7-dehydrocholesterol (Armas et al, 2007). Les sujets ayant une peau foncée présentent des taux plus faibles de 25-OH(D) (Ashraf et al,

2009). Ainsi Reyman et al (2014) ont-ils très récemment classé leurs adolescents obèses et contrôlés selon 3 tons de pigmentation de la peau. Nous avons adopté cette classification : pigmentation claire, intermédiaire et foncée.

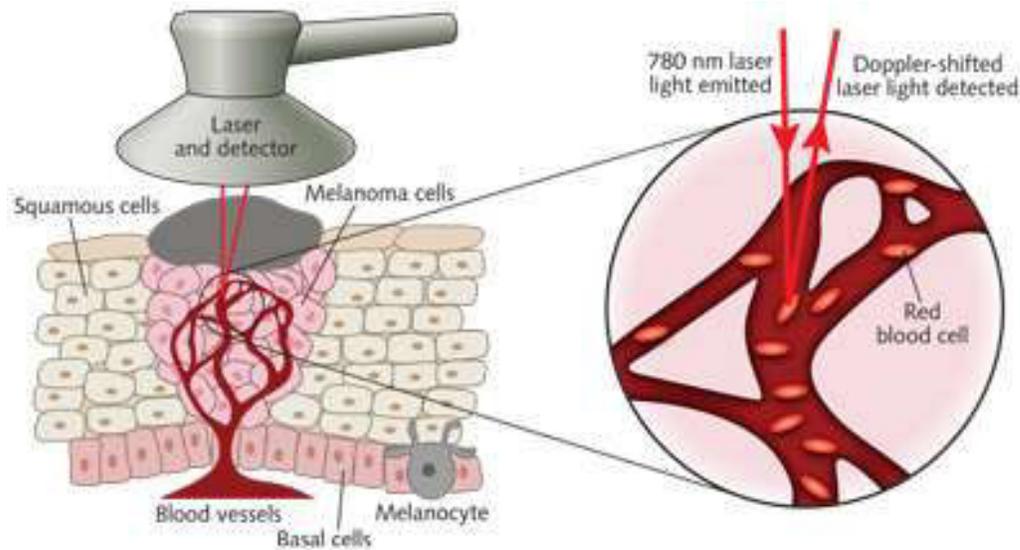
## **1.10 Evaluations vasculaires**

### **1.10.1 Evaluation de la microcirculation cutanée**

La microcirculation cutanée a été évaluée par les changements relatifs de la perfusion sanguine microvasculaire cutanée grâce aux technologies d'imagerie par laser Doppler fluxmétrie (LDF ; Laser Doppler PF5010, Perimed, France) dans l'étude 1 et par laser Doppler (laser Doppler imaging, LSCI, PeriCam PSI System®, Perimed) dans l'étude 2.

La dynamique des changements relatifs de perfusion sanguine microcirculatoire sur une petite surface de la peau peut être mesurée grâce à des stimuli vasoactifs. Il est possible d'observer des phénomènes de vasoconstriction ou de vasodilatation grâce à des procédés de chaleur ou de froid, appliqués sur corps entier ou de façon localisée (Holowatz et al., 2008; Minson et al., 2002), un test PORH (Wong et al., 2003), ainsi que par la technique de iontophorèse qui consiste à délivrer des agents pharmacologiques vasoactifs grâce à un courant de très faible intensité, ou encore, par microdialyse intradermique (Roustit and Cracowski, 2013a).

#### **Principe du Laser Doppler**



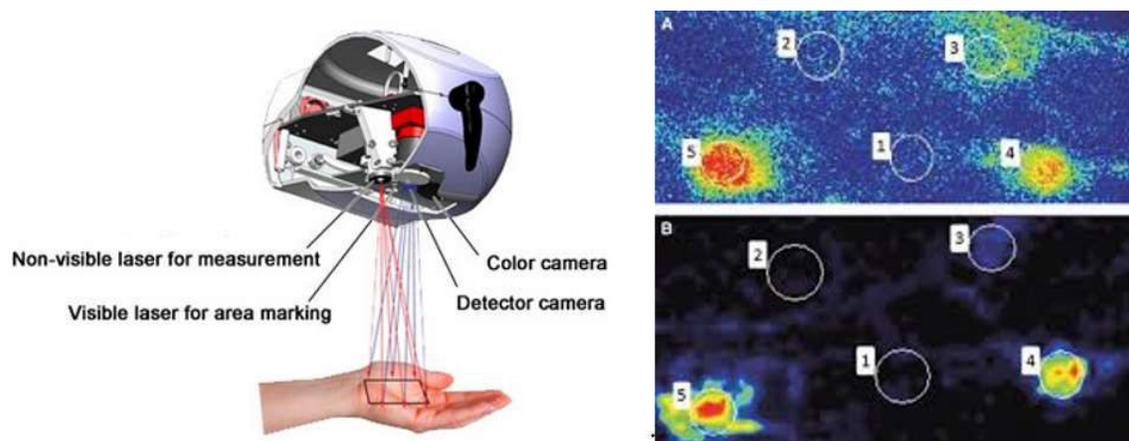
**Figure 19.** Principe du Laser Doppler.

Le Laser Doppler utilise l'effet Doppler appliqué à un rayon laser (Light Activation by Stimulated Emission Radiation), faisceau lumineux monochromatique continu de longueur d'onde élevée et peu pénétrante (échantillonnage superficiel de 1 à 3 mm), et qui permet la détection de flux lents. Le faisceau émis par la sonde traverse les différentes sous-couches cutanées jusqu'au niveau des vaisseaux de la microcirculation cutanée. Contrairement aux cellules immobiles, les cellules sanguines en mouvement réfléchissent les ondes en modifiant leur longueur d'onde : c'est l'effet Doppler. Un faisceau laser de faible énergie est transmis au tissu par une sonde à fibre optique. La lumière réfléchie est analysée, la vitesse et le nombre relatif de globules rouges dans les tissus sont calculés et exprimés en unités de perfusion sanguine.

Le laser Doppler fluxmétrie (LDF) consiste à fournir un index de la perfusion microvasculaire cutanée instantané, calculé à partir des changements de signaux, en provenance de la lumière réfléchie par les globules rouges en mouvement dans les microvaisseaux sur un

point de mesure ne dépassant pas  $1\text{mm}^3$ . Or, l'hétérogénéité régionale de la perfusion cutanée imputée à son anatomie propre peut induire un biais de reproductibilité.

Plus récemment, la technologie LSCI a fait son apparition. Cet outil permet de visualiser la perfusion sanguine au niveau microvasculaire de manière non-invasive avec une résolution élevée et une reproductibilité supérieure à celle obtenue par fluxmétrie laser Doppler (Roustit et al., 2010; Tew et al., 2011). La technique LSCI utilisée pour l'étude 2 repose sur le principe de la lumière réfléchie par un objet éclairé par une lumière laser. La lumière rétrodiffusée fait apparaître des zones sombres et lumineuses dessinant un modèle également appelé « motif moucheté » basé sur l'imagerie à granulométrie laser - effet Speckle.



**Figure 20.** Principe du Laser Speckle Contrast Imaging.

Une caméra à faisceau laser est alors utilisée pour enregistrer les mouvements des globules rouges en circulation dans les microvaisseaux. Le motif moucheté apparent reflétera la dynamique des changements de la perfusion sanguine cutanée de la zone analysée, et qui est variable en fonction des stimuli. La valeur de perfusion tissulaire mesurée avec LSCI est

exprimée en unités arbitraires de perfusion (PU), et augmente avec l'augmentation du mouvement des tissus (Briers et al., 2013).

Les images observées respectent un code couleur selon la perfusion sanguine du tissu, l'échelle de perfusion entre 0 (moins perfusé) et 300 PU (plus perfusé), avec 0-50 PU en noir, 50-100 PU en bleu foncé, 100-130 PU en vert, 130-170 PU en jaune, et >200 PU en rouge. La profondeur de pénétration est environ 0,5 à 1 mm selon le tissu.

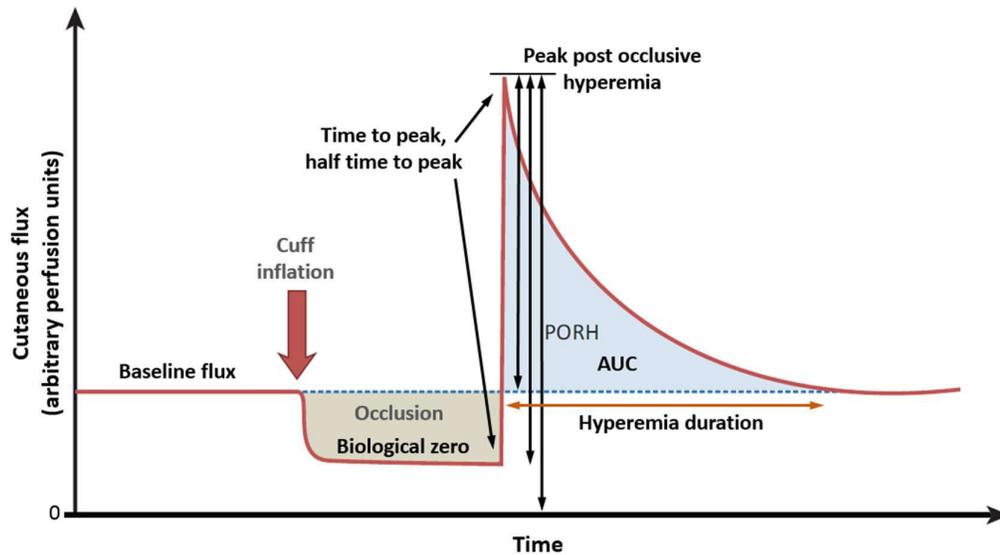
La sensibilité de la mesure des mouvements dans les tissus est une limitation majeure de la technologie LSCI. Les mesures sur de grandes surfaces cutanées, la distance de mesure, ainsi que des mesures réalisées sur des zones présentant des courbures, constituent des biais qui peuvent avoir une conséquence en termes de fiabilité et reproductibilité, des unités arbitraires de perfusion sanguine cutanée (AU) exprimées.

Parmi les précautions à prendre afin d'éviter des erreurs de diagnostic en utilisation clinique, il est recommandé de réduire le risque de mouvements aléatoires qui peuvent générer des artefacts, et de paramétrer un temps d'acquisition d'image le plus faible possible, tout en veillant à conserver une qualité d'image adéquate (Mahé et al, 2011). Pour un enregistrement efficace des mouvements périodiques des tissus, les images doivent être enregistrées en continu, à partir de distances de mesures qui doivent être comprises entre 15 et 40 cm. Enfin, les images acquises ne doivent pas dépasser un angle supérieur à 45°, au risque d'enregistrer une diminution au niveau de la perfusion sanguine mesurée (Zötterman et al., 2017).

Différents bilans microcirculatoires ont été réalisés :

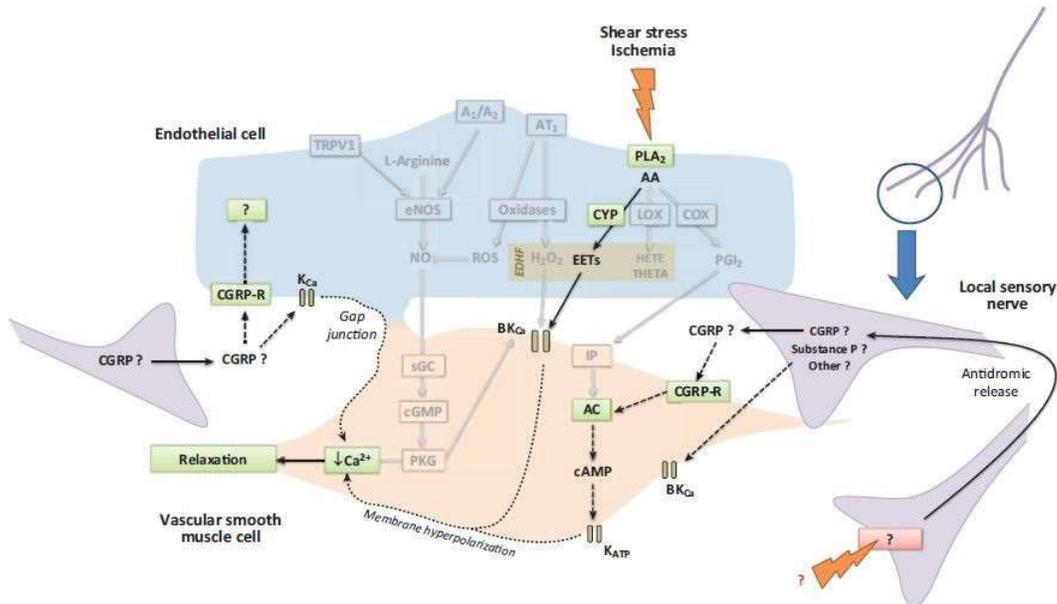
1. **Test PORH (Post-Occlusive Reactive Hyperemia) par LDF** (étude 1)

Après l'enregistrement de 10 minutes en conditions basales, une ischémie de trois minutes a été provoquée par la pose d'un brassard automatique positionné au niveau de l'avant-bras et gonflé à 250mmHg. Après trois minutes d'occlusion, le brassard était dégonflé rapidement, et la réponse hyperémique post occlusive (PORH) était alors enregistrée pendant 10 minutes.



**Figure 21.** Représentation du flux microvasculaire cutané mesuré par laser doppler fluxmétrie lors d'un test d'hyperémie réactive post-occlusive. Schéma d'après Cracowski et al., Cracowski et al., 2006) (Roustit and Cracowski, 2013b).

Lors de ce test, plusieurs facteurs rentrent en jeu. Les nerfs sensitifs par la mise en jeu d'un réflexe axonal semblent impliquer dans le pic de réponse à l'hyperémie et dans son décours. Des médiateurs locaux en relation avec les canaux potassiques calcium-dépendants (BKCa) semblent jouer un rôle majeur, suggérant aussi que l'EDHF (endothelium derived hyperpolarizing Factor) puisse être impliqué. Par contre, l'implication des prostaglandines est controversée et celle du monoxyde d'azote (NO) semble être inexistante.



**Figure 22.** Pattern de perfusion cutanée pendant et immédiatement après une occlusion au niveau des artères de conduit :Voies impliquées dans la réponse. En grisé : ne semblent pas impliquées. D’après (Roustit and Cracowski, 2013b).

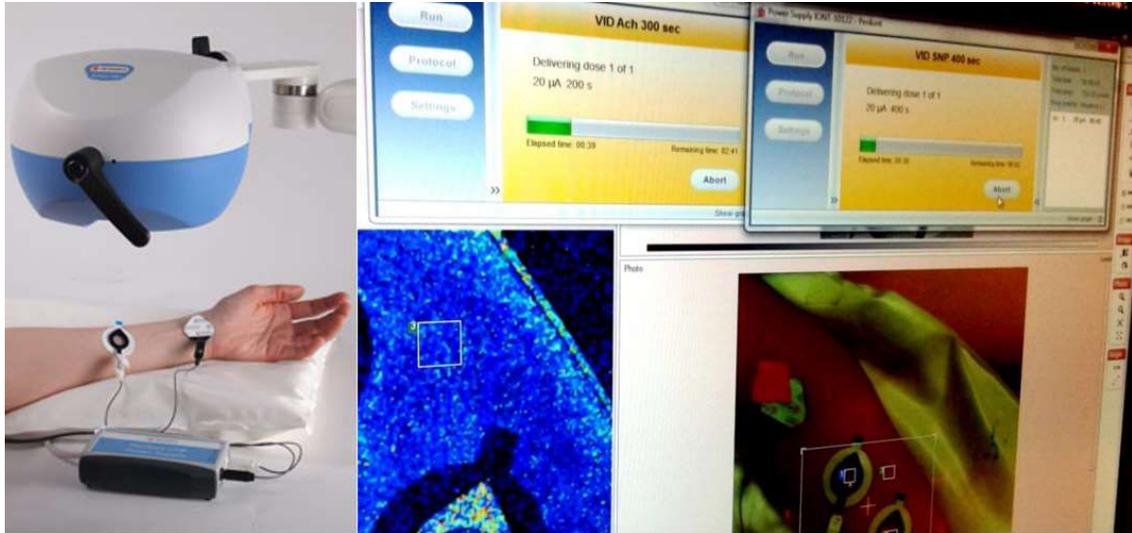
Abréviations : A1/A2, adenosine A1 and A2 receptors; AA, arachidonic acid; AC, adenylate cyclase; AT1, angiotensin II receptor type 1; BKCa, large-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel; CGRP: calcitonin genereated peptide; COX, cyclooxygenase; CYP, cytochrome P450; EETs, epoxyeicosatrienoic acids; eNOS, endothelial NO synthase; HETE, hydroxyeicosatetraenoic acid; IP, prostacyclin receptor; LOX, lipoxygenase; NO, nitric oxide; PGI<sub>2</sub>, prostacyclin; PKG, cGMP-dependent protein kinase or protein kinase G; PLA<sub>2</sub>, phospholipase A<sub>2</sub>; ROS, reactive oxygen species; sGC, soluble guanylyl cyclase; THETA, trihydroxyeicosatrienoic acid; TRPV1, transient receptor potential vanilloid receptor.

D’après Rossi et al (2006), le relâchement des cellules musculaires lisses vasculaires en réponse à la réduction de la pression transmurale dans les vaisseaux distaux de l’occlusion pourrait également être impliqué dans la réponse PORH.

## 2. Tests de vasoréactivité microcirculatoire par iontophorèse avec LSCI (étude 2)

La technique d'iontophorèse est une technique qui permet de mesurer les changements de la vasoréactivité microvasculaire cutanée dus à des stimuli pharmacologiques ou physiologiques. Grâce à un courant de faible intensité, cette technique permet l'administration transcutanée de principes vasoactifs qui ciblent spécifiquement des récepteurs ou des voies impliqués dans la régulation microvasculaire.

Les molécules sont simplement déposées sur la peau et l'application d'un courant de faible intensité facilite le passage des molécules à travers la peau. Les effets des molécules sur les micro-vaisseaux sous-cutanés sont ensuite analysés à l'aide de la technique du LSCI, qui forme à partir de la lumière rétro-diffusée de la peau éclairée par une lumière laser, un motif aléatoire constitué de zones de contrastes. Ce motif appelé figure de granularité subit des modifications dans le temps en fonction des mouvements des globules rouges dans le tissu. Dans le système LSCI utilisé lors du protocole expérimental, une caméra CCD a enregistré les variations de contraste de la figure de granularité (Lindahl et al., 2013). La charge totale (durée + intensité) d'application du courant utilisée pour faciliter la délivrance transcutanée de l'acétylcholine et du nitroprussiate de sodium a été adaptée afin d'éviter un risque de « brûlure » superficielle en cas d'utilisation prolongée ou d'application de courant de trop forte intensité, mais aussi, afin d'éviter un effet de vasoréactivité courant dépendant (Tesselaar and Sjöberg, 2011). Pour ce type d'applications, les seuls effets rapportés sont des picotements qui peuvent être ressentis sur la zone d'application. Il s'agit d'une technique d'étude de la vasoréactivité au niveau microcirculatoire est non-invasive et non douloureuse (seuls des picotements au niveau cutané sont parfois ressentis), ce qui facilite son utilisation chez un grand nombre de patients dont les enfants.



**Figure 23.** Système de délivrance transcutanée de substances vasoactives et caméra LSCI.

Certains facteurs influencent le transport iontophorétique (Iredahl, Tesselaar, 2015).

- Propriétés physico-chimiques (charge molécule, ionisation, polarité : anode – cathode)
- Paramètres électriques (polarité, quantité courant : effet courant)
- propriétés de la peau (épaisseur et résistance peau)

Des études se sont intéressées à différencier les effets courant et substance lors d'essais avec la technique de iontophorèse. Ces études ont permis de conclure qu'il est possible d'obtenir des réponses significatives à diverses drogues en évitant des effets non spécifiques importants. Pour cela, il est primordial de limiter l'intensité du courant pendant l'iontophorèse à 0,02 mA (0,013 mA / cm<sup>2</sup>) et la charge iontophorétique totale qui ne doit pas excéder 12 mC (7,8 mC / cm<sup>2</sup>).

La charge iontophorétique est calculée de la façon suivante :

Charge exprimée en millicoulombs (mC) = intensité du courant exprimée en ampères (A) x temps exprimé en secondes (s) voir Tesselaar and Sjoberg, 2011 pour charge optimale pour éviter effet-courant (Loader et al, 2017).

Egalement, la préparation des solutions de concentrations de diverses substances doit respecter une dissolution à 1% ; celle-ci sera réalisée avec une solution saline (Loader et al, 2017).

Le protocole mise en place dans l'étude 2 a donc été le suivant :

L'évaluation de la microcirculation a été réalisée dans une pièce calme à neutralité thermique (23°C-24°C<sup>12</sup>). Le positionnement de la sonde, au niveau de la face interne de l'avant-bras, était réalisé sur peau saine, et éloignée du réseau de veines superficielles. Afin de garantir la fiabilité de l'interprétation des mesures de la microcirculation, le repérage des sites de mesures était réalisé pour respecter les mêmes sites en pré et en post 3 mois. Les adolescents à jeun depuis 3 h ne devaient pas avoir pratiqué des exercices physiques ni consommer tout médicament susceptible de modifier le débit cutané (Tibiriçá et al., 2011). Après une période de repos de 15 minutes en position allongée, la PA et la FC étaient mesurées et l'enregistrement des perfusions cutanées débutait.

Après une période repos de 10 min, avec le bras en position horizontale au niveau du cœur, le flux sanguin microcirculatoire de repos a été mesuré pendant 2 min. Selon les recommandations de Loader et al (2017), la réponse vasomotrice a été évaluée suite à l'infusion d'acétylcholine (endothélium-dépendant) (courant anodique, 1 dose de 0.02mA pendant 200s) et de sodium nitro-prussiate (endothélium-indépendant) (courant cathodique, 1 dose de 0.1mA 0.02mA pendant 400s).

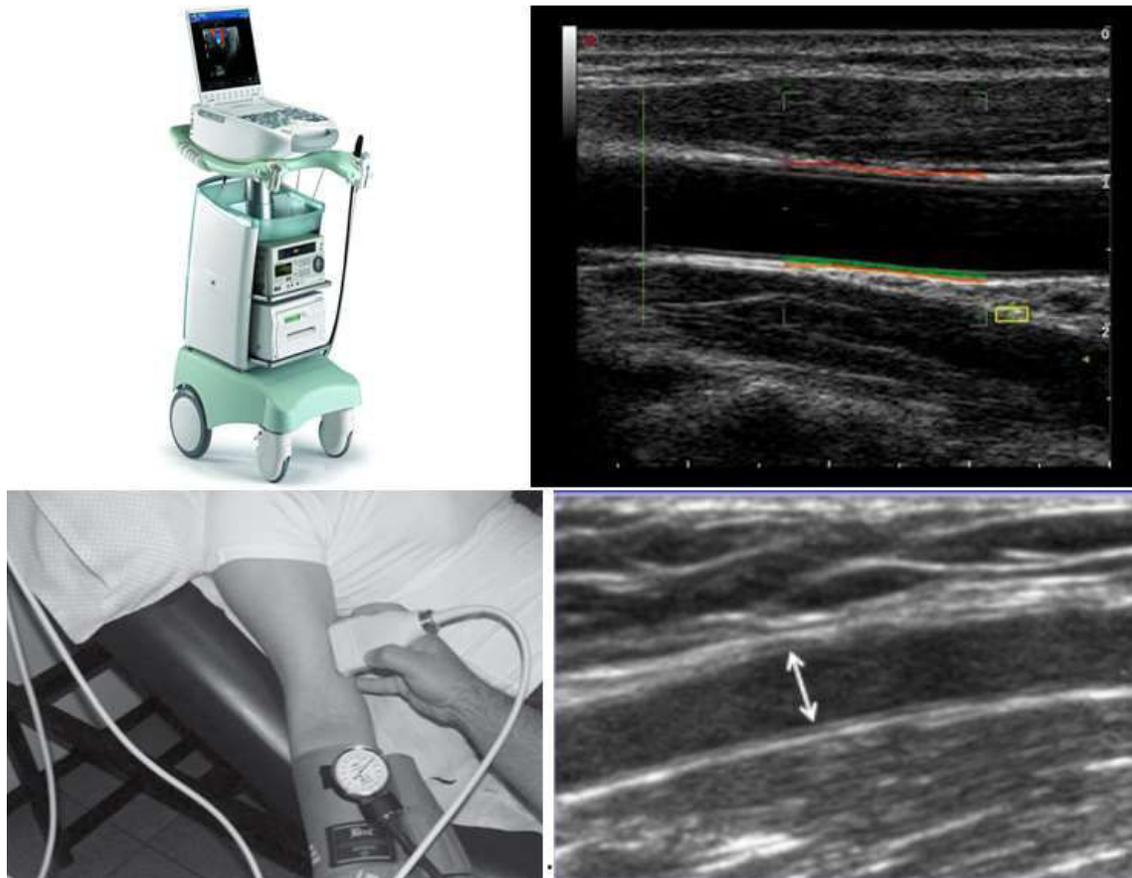
### ***1.10.1.1 Variables et expression des résultats***

Les valeurs basales et maximales de flux cutané (CBF et peak CBF respectivement) ont été enregistrées et exprimées en PU (unités arbitraires internationales), et le pourcentage de variation de la valeur basale à la valeur pic a été exprimé. Les données ont également été exprimées en valeurs de conductance vasculaire (CVC), calculées en divisant CBF en PU par la pression artérielle moyenne en mm.Hg<sup>-1</sup> pour prendre en compte les différences de PA intergroupes (Roustit and Cracowski, 2013) Enfin, la réponse totale de l'hyperémie reactive post-occlusive (PORH) a été déterminée en calculant l'aire sous la courbe (AUC) de la réponse hyperémique.

### **1.10.2 Evaluation de la macrocirculation (étude 2)**

De nombreuses techniques non invasives, indispensables dès lors qu'il s'agit d'évaluer des enfants, sont disponibles pour l'exploration des artères de conduit. Seules les méthodes utilisées dans le cadre des travaux de thèse sont présentées.

Les explorations au niveau macrovasculaire ont été réalisées par **échocardiographie Doppler**.



**Figure 24.** Images d'artère brachiale analysées par imagerie écho doppler avec une sonde d'échographie doppler au repos et lors d'un test d'hyperémie réactive post occlusive.

Le bilan vasculaire a été réalisé par échographie-Doppler au niveau de la macrocirculation pour une durée totale d'environ 45 minutes. L'enregistrement des images échographiques en 2D a été réalisé avec un appareil de type Esaote My Lab (MyLab30, Esaote SpA, Firenze, Italie) en utilisant une sonde linéaire dot la fréquence était de 10Mhz. Après une période en position allongée de 15 minutes, et le sujet installé en décubitus dorsal, les évaluations ont été réalisées au niveau des artères du cou et des membres supérieurs, en position allongée. Dans un premier temps, un bilan morphologique a été réalisé par échographie simple. Dans un second temps, l'état fonctionnel de la paroi est analysé à l'aide d'une épreuve d'hyperhémie post-ischémique.

- Mesure de l'ensemble intima-média (EIM)

La mise en évidence de l'augmentation d'épaisseur intima média lors d'un examen échographique a une valeur prédictive de risque cardiovasculaire qui présente un intérêt diagnostique chez de nombreuses populations à risque dont les personnes souffrant d'obésité (Juonala et al, 2015). En effet, l'augmentation de l'EIM est associée à de nombreux facteurs de risque cardio-vasculaire (Cote et al, 2015). L'épaisseur propre de l'intima étant trop faible pour déterminer une interface précise, la première couche repérée en échographie correspond en fait à la superposition de l'intima et de la média. La précision et la reproductibilité de la mesure d'épaisseur du complexe intima-media sont essentielles d'où l'importance de suivre le consensus de Mannheim (Touboul 2012).

L'épaisseur intima-media de la carotide commune droite a été ainsi détectée de façon automatique selon les recommandations de Mannheim (Touboul 2012), l'EIM a été moyennée sur 6 cycles cardiaques.

- Compliance artérielle carotidienne

L'élévation de la rigidité artérielle est un autre facteur de risque majeur pouvant servir d'indicateur pronostic clinique pour améliorer le diagnostic et la prise en charge thérapeutique chez les populations à risque (Cote et al, 2015). L'augmentation de la rigidité artérielle entraîne une diminution de la compliance/distensibilité qui se traduit par une moindre capacité des artères à se laisser distendre sous l'effet d'une pression. La souplesse de la paroi artérielle joue un rôle essentiel dans la transformation du flux aortique pulsé en un écoulement capillaire continu, alors qu'une perte d'élasticité de la paroi artérielle aura pour conséquence un accroissement significatif de la pression artérielle pulsée. Pour ces raisons, la mesure de la

rigidité artérielle est importante aussi bien pour la prévention que pour le traitement des maladies cardiovasculaires. L'élasticité de la paroi artérielle peut être mesurée indirectement sur un segment artériel par la vitesse de propagation de l'onde artérielle; ou bien directement, en termes de compliance et de distensibilité, à partir des variations de diamètre au cours du cycle cardiaque et de la mesure simultanée des variations de pression.

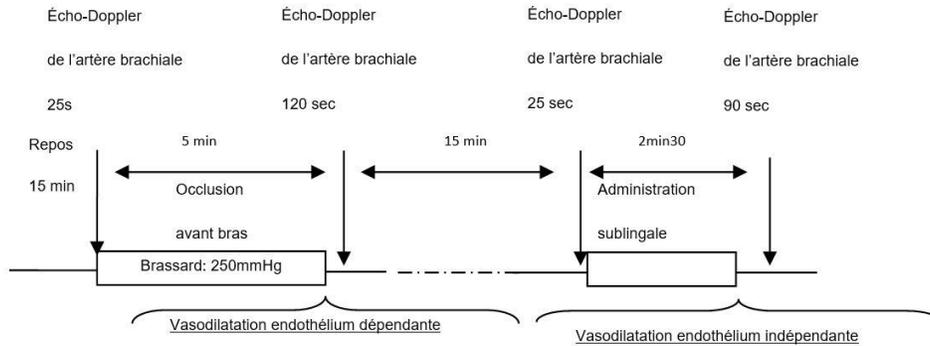
$$\text{compliance (mm}^2\text{.mmHg}^{-1}) = \pi \times (D_{\text{sys}}^2 - D_{\text{dia}}^2) / 4 \times \text{PP}$$

avec PP : pression pulsée (Tounian et al., 2001a)

Les diamètres télédiastoliques ( $D_{\text{dia}}$ ) et ( $D_{\text{sys}}$ ) ont été mesurés de la paroi antérieure à la paroi postérieure (selon Corretti ,2002).

- **Fonction endothéliale vasomotrice au niveau de l'artère brachiale**

Une épreuve d'hyperhémie post-ischémique a été réalisée. Cette approche, largement validée et faisant l'objet de consensus méthodologiques, consiste à mesurer les variations de diamètre induites sur l'artère brachiale par une ischémie transitoire (cinq minutes) imposée à l'avant-bras. Ce test est complété par une contre-épreuve aux dérivés nitrés. Brièvement, l'évaluation de la vasomotricité au niveau de l'artère brachiale a été réalisée selon le protocole explicité figure protocole d'évaluation de la fonction vasculaire au niveau macrocirculatoire (*Figure 25*).



**Figure 25.** Schéma évaluation de la vasomotricité au niveau de l'artère brachiale.

L'évaluation de la vasorelaxation dépendante (FMD) et indépendante (DN) a été appréciée à l'aide des variations de diamètres exprimées de la façon suivante :

Vasorelaxation endothélium-dépendante ou -indépendante (%) =  $100 \left[ \frac{\text{diamètre maximal post-ischémie ou post-prise de trinitrine} - \text{diamètre de repos}}{\text{diamètre de repos}} \right]$

Le stimulus majeur du FMD est le stress de cisaillement d'où la recommandation d'indexer le FMD par la vitesse de cisaillement (shear rate) (FMD/SR) (Betik 2004 ; Pyke 2004), avec  $SR (s^{-1}) = 4 \times \text{Vitesse moyenne (cm/s)} / \text{diamètre (cm)}$  (Wray et al., 2005).

**Tableau 5.** Récapitulatif des bilans réalisés et des variables mesurées dans les 2 études.

Matériels et Méthodes	Etude 1	Etude 2
Variables mesurées	MCT vs HIIT	VIDADO
<b>Nombre de sujets</b>		
Adolescents obèses inclus	29	26
Adolescents normo-pondérés inclus	16	23
<b>Bilan Biologique</b>		
glucidique: glycémie, HOMA-IR et HbA1C	x	x
lipidique: triglycérides, cholestérol (total, HDL, LDL)	x	x
Marqueurs inflammatoires : CRPus, IL-6, leptine, Adiponectine		x
Statut en VitD : 25(OH)D, PTH, calcium		x
<b>Bilan anthropométrique</b>		
IMC, IMC Z score	x	x
DEXA	x	x
<b>Test navette 20m (chez les seuls AO)</b>		
Nombre de 20m	x	x
FC max	x	x
<b>Enquêtes Alimentaires</b>		
Apports sur 3 jours		x
Vitamine D et calcium		x
<b>Pigmentation de la peau</b>		x
<b>Bilans vasculaires</b>		
<b>Bilan microcirculatoire</b>		
PORH (par LDF)	x	
Ionto ACh et SNP (par LSCI)		x
<b>Bilan macrocirculatoire</b>		
Compliance et IMT carotidienne		x
FMD et DN		x

## **2. Traitement statistique**

Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels MedCalc (bvba, Mariakerke, Belgium) (Articles 1, 3 et 4) et R (R Core Team (2017) (Article 2). La distribution normale des données a été testée à partir du test de Kolmogorov-Smirnov et l'homogénéité des variances avec le test de Levene.

Pour l'étude 1, les variables qui ne présentaient pas une distribution normale ont été log-transformées afin d'approcher la normalité en vue des traitements statistiques des données transformées. Le test t de student pour groupes non appariés a été utilisé pour analyser les différences inter-groupes avant intervention et pour analyser les variations post-intervention inter-groupes. Alternativement, le test ANOVA à mesures répétées à deux facteurs (groupe x temps) a été utilisé afin d'identifier les différences significatives entre les groupes pour l'ensemble des variables, et le test de Tukey a permis de faire des analyses post-hoc quand cela était approprié.

Pour l'étude 2, le nombre prévu de personnes à inclure dans la recherche a été calculé à partir de la différence observée par Chitalia et al. (2014) avant et après supplémentation en vitamine D sur FMD, à savoir une différence de 0.03 avec un écart-type de 0.035. Avec une puissance fixée à 80% et un risque alpha de 5%, un effectif de 22 sujets par bras de randomisation était nécessaire pour mettre en évidence l'effet VD sur FMD. Au vu de la taille des groupes (<30), des tests non-paramétriques ont été utilisés. Le test de Mann-Whitney a été utilisé pour étudier les différences entre obèse et témoins et entre les groupes d'obèses à l'inclusion. Pour identifier les effets du programme interventionnel, un test des rangs de Wilcoxon a été utilisé. Enfin, les relations entre les différentes variables ont été mises en

évidence par le coefficient de corrélation de Spearman). Les données ont été exprimées en moyenne, en médiane et dispersion, et la valeur alpha de  $p < 0.05$  était considérée significative.

### **3. Résultats d'études**

### **3.1 Etude 1**

## **Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents**

Morrissey Christopher, Montero David, Raverdy Cécile, Masson Delphine,

Amiot Marie Josèphe, Vinet Agnès.

Publiée dans International Journal of Sports Medicine (2018)

**Résumé :**

L'augmentation récente de la prévalence de l'obésité chez les jeunes est une préoccupation à l'échelle mondiale, et pose en terme de santé publique, le problème du risque de maladies non transmissibles telles que le diabète et les maladies cardiovasculaires, avec des processus athérosclérotiques aux effets délétères pouvant survenir à un âge précoce (Serdula et al., 1993; 2017). Récemment des études sur l'évaluation de la réactivité macrovasculaire chez les enfants et adolescents obèses ont rapporté une fonction endothéliale préservée (Charakida et al., 2012a; Montero et al., 2014a; Ryder et al., 2016) mais une altération de la fonction des muscles lisses vasculaires (Aggoun et al., 2008a; Montero et al., 2014a; Tounian et al., 2001a). A ce jour, la fonction microvasculaire a été peu explorée chez les enfants obèses, avec des résultats controversés (Chin et al., 1999a; Monostori et al., 2010a; Montero et al., 2014a; Schlager et al., 2011a). En parallèle, bien que les effets positifs de l'activité physique, et plus particulièrement de l'entraînement de type aérobie sur de nombreux paramètres de santé sont connus (Strasser, 2013), la modalité et l'intensité de l'exercice les plus efficaces chez les enfants et adolescents obèses ne sont pas clairement établies. Cette étude s'est proposée de comparer le phénotype microvasculaire des adolescents obèses et normo-pondérés, et de déterminer quelle modalité de programme d'activités physiques (MCT, pour entraînement modéré de type continu ou HIIT, pour entraînement intense intermittent) est la plus efficace pour améliorer les paramètres de santé et la fonction microvasculaire chez les adolescents obèses.

La composition corporelle, le profil métabolique, la condition physique et le flux cutané, mesuré par laser Doppler fluxmétrie, au repos et durant la phase hyperémique réactive post-occlusive ont été mesurés avant et après un programme interventionnel chez 29 adolescents obèses. Seize adolescents ont suivi un programme HIIT et 13 adolescents un programme MCT combiné à une diète hypocalorique. Seize adolescents normo-pondérés ont été inclus à l'étude

pour mettre en évidence d'éventuelles dysfonctions microcirculatoires chez les adolescents obèses avant le programme.

Les principales caractéristiques des populations étudiées avant les programmes interventionnels sont rapportées dans le tableau 1. Les groupes d'adolescents obèses entraînés (MCT et HIIT) étaient appariés en âge ainsi qu'au niveau des paramètres anthropométriques (IMC, IMC z-score, masse grasse et masse maigre).

**Table 1:** General clinical characteristics in obese adolescents.

	MCT (n = 13)		HIIT (n = 16)	
	before	after	before	after
<i>Demographic parameters</i>				
Age (years)	15.0 ± 1.6	15.2 ± 1.7	15.0 ± 1.4	15.2 ± 1.4
Gender (males/females)	4/9		4/12	
<i>Clinical parameters</i>				
Height (cm)	165.2 ± 12.2	165.2 ± 12.2	162.8 ± 8.8	163 ± 8.9
Weight (kg)	93.2 ± 14.4	85.9 ± 12.3*	93.1 ± 14	86.9 ± 11.4*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	34.0 ± 1.0	31.4 ± 1.2*	35.0 ± 3.0	32.6 ± 2.7*
BMI z-score	3.9 ± 0.4	3.5 ± 0.4*	4.0 ± 0.5	3.7 ± 0.4*
Fat mass (%)	48.2 ± 5.8	46.0 ± 6.7*	49.4 ± 3.3	46.5 ± 5.3*
Abdominal FM (%)	54.8 ± 5.1	51.7 ± 6.5*	56.6 ± 3.8	53.2 ± 5.7*
Gluteal FM (%)	52.2 ± 6.1	50.5 ± 6.9*	55.3 ± 4.3	53.0 ± 5.3*
Lean mass (kg)	46.1 ± 11.6	45.2 ± 11.7	44.2 ± 8.2	43.6 ± 8.3
Systolic blood pressure (mmHg)	115.0 ± 10.9	114.3 ± 8.0	117.1 ± 7.7	117.9 ± 5.8
Diastolic blood pressure (mmHg)	67.8 ± 8.3	60.9 ± 4.3*	63.1 ± 4.9	63.4 ± 5.3
Mean blood pressure (mmHg)	83.5 ± 8.3	78.7 ± 5.0	81.1 ± 4.1	81.5 ± 4.2
Resting HR (bpm)	68.3 ± 8.5	62.8 ± 10.5*	73.9 ± 8.4	68.6 ± 11.0*
<i>Performance test</i>				
Maximal HR (bpm)	194.5 ± 6.3	192.5 ± 7.9	193.4 ± 7.8	199.4 ± 8.2
Number of 20m	31.9 ± 12.8	36.3 ± 13.7*	24.3 ± 9.4	30.9 ± 11.0*
<i>Metabolic markers</i>				
Glycemia (g/L)	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1
Insulin (μU/ml)	10.9 ± 4.4	11.3 ± 5.5	9.4 ± 5.2	8.4 ± 3.9
HOMA-IR	2.0 ± 1.0	2.2 ± 1.1	1.7 ± 1.0	1.5 ± 0.7
Triglycerides (g/L)	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.3*	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.3*
Total cholesterol (g/L)	1.7 ± 0.4	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2
TG/HDL	1.6 ± 0.6	2.0 ± 0.6*	1.6 ± 0.7	1.9 ± 0.9*

MCT, moderate continuous training; HIIT, high-intensity interval training; BMI z-score, body mass index-Z score; HR, heart rate; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; TG, triglycerides; HDL, high density lipoprotein

Data are expressed as means ± SDs. \*, significant difference between before and after intervention, p<0.05.

Après 3 mois et indépendamment de la modalité d'entraînement, les programmes interventionnels ont eu des effets bénéfiques sur le poids, l'IMC, l'IMC z-score et la masse grasse (totale, abdominale et glutéale). Ces résultats similaires entre MCT et HIIT ont été obtenus avec un coût énergétique 37% inférieur lors des sessions HIIT. La pression diastolique a diminué exclusivement dans le groupe d'adolescents obèses MCT. Les niveaux de triglycérides (TG) ainsi que le rapport TG/HDL étaient augmentés après l'intervention indépendamment des modalités d'entraînement (MCT et HIIT). Enfin, le cholestérol total était diminué pour le seul groupe MCT; cependant, les changements des valeurs de cholestérol, mesurés avant et après intervention (exprimés en pourcentage), ne présentaient pas de différence significative entre les groupes.

Les valeurs de perfusion basale (unités de perfusion sanguine au repos, en PU) ne présentaient pas de différence significative entre les adolescents obèses et contrôles. Les valeurs de pic de perfusion ( $p=0.014$ ) en PU (unité de perfusion arbitraire internationale), les valeurs de pic de conductance vasculaire cutanée (CVC) ( $p=0.012$ ) ainsi que l'aire sous la courbe (AUC) ( $p=0.015$ ) étaient supérieures chez les adolescents obèses par rapport aux adolescents normo-pondérés. Ces réponses supérieures chez les obèses pourraient être le résultat de phénomène compensatoire pour maintenir une fonction microcirculatoire normale

Après 3 mois d'intervention, les valeurs de perfusion basale ont eu tendance à augmenter quel que soit le groupe d'entraînement chez les adolescents obèses ( $p=0.074$ ) suggérant un possible phénomène d'angiogénèse. Les valeurs de pic de perfusion, pic CVC et AUC n'ont pas changé quelle que soit la modalité d'entraînement. Toutefois, les rapports pic de perfusion/perfusion basale ont diminué dans les deux groupes (MCT et HIIT) sans interaction intergroupe. Ces résultats de variables microvasculaires ont été maintenus après un ajustement du coût énergétique moyen des modalités d'entraînement respectives.

## Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents

### Authors

Christopher Morrissey<sup>1</sup>, David Montero<sup>2</sup>, Cecile Raverdy<sup>3</sup>, Delphine Masson<sup>3</sup>, Marie-Jo Amiot<sup>4</sup>, Agnes Vinet<sup>5</sup>

### Affiliations

- 1 University of Avignon, LAPEC, Avignon, France
- 2 Institute of Physiology, University of Zurich, Zurich Center for Integrative Human Physiology, Zurich, Switzerland
- 3 SSR Institut Saint Pierre, Unite de dietetique, Palavas-les-Flots, France
- 4 Aix-Marseille Université, INRA,INSERM, Marseille, UMR "Nutrition, Obesity and Risk of Thrombosis", Marseille, France
- 5 University of Avignon, LAPEC, Avignon, France

### Key word

exercise training, obesity, microcirculation

accepted 05.02.2018

### Bibliography

DOI <https://doi.org/10.1055/a-0577-4280>  
 Published online: 30.4.2018  
 Int J Sports Med 2018; 39: 450–455  
 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York  
 ISSN 0172-4622

### Correspondence

Mrs. Agnes Vinet  
 University of Avignon  
 LAPEC  
 74 rue Louis Pasteur  
 Avignon, 84000

### France

Tel.: +33/49/0162 931, Fax: +33/49/0162 900  
 agnes.vinet@univ-avignon.fr

### ABSTRACT

The optimal exercise modality for the improvement of health-related parameters and microvascular function in obese adolescents is not yet fully understood. Therefore, this study aimed to 1) compare the microvascular phenotype of obese and normal-weight adolescents; and 2) to determine the effects of a lifestyle intervention including three months of moderate continuous training (MCT) or high-intensity interval training (HIIT) on health-related parameters and microvascular function in 29 obese adolescents. Body composition, metabolic profile, aerobic fitness and cutaneous blood flow, measured using laser Doppler flowmetry at rest and during post-occlusive reactive hyperemia, were assessed prior to and following lifestyle intervention. Sixteen normal-weight adolescents were included as reference controls for baseline microvascular parameters. At baseline, obese adolescents had higher peak blood flow, peak vascular conductance and area under the curve for post-occlusive reactive hyperemia than normal-weight adolescents. Conversely, peak blood flow, peak vascular conductance and area under the curve data remained unchanged after MCT and HIIT without intergroup differences. However, the peak/basal blood flow ratio decreased in both MCT and HIIT groups without any interaction between groups due to basal CBF increase (tendency  $p = 0.074$ ). Exercise training, whatever the modality, does not improve peak microcirculatory function.

### Introduction

With an increasing prevalence, pediatric obesity is a current major public health issue commonly presaging adult obesity and premature mortality [33]. Indeed, childhood obesity may promote adverse atherosclerotic processes at an early stage [27]. Previous studies that assessed macrovascular reactivity in obese children and obese adolescents (OAs) reported preserved endothelial function [5, 26, 31] but impaired smooth muscle function [1, 26, 36]. Presumably, the deleterious impact of adiposity on the large artery phenotype during the early stages of obesity may be associated with hyperdynamic circulation causing functional adaptation at the

endothelial level [5, 16]. In contrast, studies on microvascular function in obese children and OA were scarce and reported controversial results [6, 24, 26, 32].

Although the health-related benefits of aerobic training in obese individuals is well established, it is not yet clear which modality and intensity of exercise is most effective in obese children. A growing body of evidence demonstrated that high-intensity interval training (HIIT) can be an effective alternative to traditional moderate continuous training (MCT) [15]. In a recent meta-analysis combining six interventional studies enrolling obese children and

adolescents, HIIT mediated larger decreases in systolic blood pressure and greater increases in maximal oxygen uptake ( $\text{VO}_2\text{max}$ ) than other forms of exercise [15].

Furthermore, HIIT was associated with up to a twofold increase in endothelial dilator function at the macrocirculatory level when compared with MCT in adults with metabolic and cardiovascular disease [29]. However, only Tjonna et al. [35] reported macrovascular function improvement after HIIT and a multidisciplinary program in obese children, whereas no research has yet compared the microvascular effects of HIIT and MCT in obese young people. Therefore, the present study aimed (i) to compare the microvascular phenotype of OAs and normal-weight adolescents; and (ii) to determine the effects of a lifestyle intervention program including three months of HIIT or MCT on cutaneous microvascular reactivity, body composition, metabolic markers and aerobic fitness in OAs.

## Materials and Methods

### Subjects

Twenty-nine OAs, aged 12–16 years, nonsmokers, not taking any medications and without known cardiovascular or metabolic disease, were recruited from a pediatric weight management clinic. Obesity was defined according to the age and sex-specific cut-off points of childhood obesity as indicated by the International Obesity Task Force [7]. Sixteen healthy normal-weight pubertal stage and gender-matched adolescents (NWs) were recruited from the community to serve as reference controls for baseline microvascular parameters. To minimize the potential moderating effect of physical activity, adolescents who participated in extracurricular sports activities more than 2 h per week were not included. After inclusion in the clinic, obese adolescents, who were in different classrooms, were assigned to either the HIIT group ( $n = 16$ ) or the MCT group ( $n = 13$ ) based on their study group at the school. Informed consent was obtained from the parents and adolescents. The study protocol was approved by the local Ethics Committee (No. ISRCTN67155720) and performed in accordance with the principles outlined in the Declaration of Helsinki [18].

### Intervention program

The OAs participated in a 3-month weight loss program consisting of diet and exercise training managed by the pediatric weight center. Body composition, metabolic parameters, aerobic fitness and microvascular function were assessed at baseline and after three months of intervention. Daily throughout the clinical program, the OAs received both standard and personalized balanced meals prescribed by dietitians based on a balanced distribution of macronutrients (55% carbohydrates, 15% protein and 30% lipids with less than 10% saturated fat). Their total daily food intake was calculated to enable them to reach a negative balance of 500 kcal/day.

The HIIT and MCT programs consisted of three supervised sessions per week over 3 months. Heart rate (HR) was monitored continuously during the training sessions (Polar S810 monitor, Kempele, Finland). The MCT program (including boxing and Nordic walking) progressively increased in duration and intensity with an exercise intensity beginning at about 40 min at 60% of maximal HR

(HRmax) progressing to 60 min at 65–70% of HRmax. After a 10 min walking warm-up at 50%–60% of HRmax, the HIIT program consisted of (4 to 6) x (2 min to 2 min 30 s) periods at 90–95% of HRmax interspersed by 1 min 30 s periods at 55% of HRmax.

To enhance the adherence and enjoyment of the OAs, rather than prescribing treadmill or bike exercise, the HIIT modality consisted of a more varied exercise protocol with two sessions of an alternative training circuit that included variable upper and lower limb exercises and one session of boxing. A cool-down period of 5 to 10 min terminated the session.

Total exercise durations ranged from 40 to 60 min in the MCT group and from 24 to 32 min in the HIIT group.

The training energy cost was estimated by the following predictive equation [3].

Energy cost = (((%HR reserve x  $\text{VO}_2\text{max}$  x 21)/100)/4.18) x exercise duration) – ((basal metabolic rate x exercise duration)/1440) [17]; with exercise duration (in min),  $\text{VO}_2\text{max}$  (in  $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) estimated by the Léger and Lambert equation [23], and basal metabolic rate (in kcal) estimated by the Harris Benedict equation [13].

### Measurements

**Body composition and anthropometric assessment**

Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by height in square meters ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ); and BMI z-scores were also calculated. Body composition was assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (QDR 2000 – Discovery, Hologic, Bedford, MA, USA).

### Blood chemistry

Fasting blood samples, assessed only in OAs, were collected to determine plasma glucose, plasma insulin and lipid profile. Insulin resistance was estimated by calculating the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index [8].

### Exercise performance

The OAs performed the 20-meter shuttle run test [23]. Heart rate (HR) was monitored throughout the test (Polar S810 monitor, Kempele, Finland). Initial running speed was  $8.0\text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  and increased by  $0.5\text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  every minute. Adolescents were instructed and encouraged to complete as many stages as possible until volitional exhaustion.

### Microvascular function and blood pressure

Vascular measurements were performed after overnight fasting in a quiet room at a controlled temperature between 22 and 24°C. All subjects had abstained from strenuous exercise for 24 h before the test. Measurements commenced following 20 min of acclimatization in the supine position, and heart rate and blood pressure measurements were performed on the left arm by an automated system (Dinamap, GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA).

Assessment of cutaneous microvascular blood flow (CBF) was performed using laser Doppler flowmetry (LDF) (Periflux PF 5000, Perimed, Stockholm, Sweden). The single-point LDF technique involves continuous monitoring of blood flow by measuring changes in microvascular perfusion using the Doppler principle, previously described in detail [10]. Cutaneous blood flow was measured in conventional perfusion units (PU) using a thermostatic LDF probe



Electronic reprint for personal use

► **Table 1** General clinical characteristics in obese adolescents.

	MCT		HIIT	
	(n = 13)		(n = 16)	
	Before	After	Before	After
<b>Demographic parameters</b>				
Age (years)	15.0±1.6	15.2±1.7	15.0±1.4	15.2±1.4
Gender (males/females)	4/9		4/12	
<b>Clinical parameters</b>				
Height (cm)	165.2±12.2	165.2±12.2	162.8±8.8	163±8.9
Weight (kg)	93.2±14.4	85.9±12.3 *	93.1±14	86.9±11.4 *
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	34.0±1.0	31.4±1.2 *	35.0±3.0	32.6±2.7 *
BMI z-score	3.9±0.4	3.5±0.4 *	4.0±0.5	3.7±0.4 *
Fat mass (%)	48.2±5.8	46.0±6.7 *	49.4±3.3	46.5±5.3 *
Abdominal FM (%)	54.8±5.1	51.7±6.5 *	56.6±3.8	53.2±5.7 *
Gluteal FM (%)	52.2±6.1	50.5±6.9 *	55.3±4.3	53.0±5.3 *
Lean mass (kg)	46.1±11.6	45.2±11.7	44.2±8.2	43.6±8.3
Systolic blood pressure (mmHg)	115.0±10.9	114.3±8.0	117.1±7.7	117.9±5.8
Diastolic blood pressure (mmHg)	67.8±8.3	60.9±4.3 *	63.1±4.9	63.4±5.3
Mean blood pressure (mmHg)	83.5±8.3	78.7±5.0	81.1±4.1	81.5±4.2
Resting HR (bpm)	68.3±8.5	62.8±10.5 *	73.9±8.4	68.6±11.0 *
<b>Performance test</b>				
Maximal HR (bpm)	194.5±6.3	192.5±7.9	193.4±7.8	199.4±8.2
Number of 20 m	31.9±12.8	36.3±13.7 *	24.3±9.4	30.9±11.0 *
<b>Metabolic markers</b>				
Glycemia (g/L)	0.7±0.1	0.8±0.0	0.8±0.1	0.7±0.1
Insulin (µU/ml)	10.9±4.4	11.3±5.5	9.4±5.2	8.4±3.9
HOMA-IR	2.0±1.0	2.2±1.1	1.7±1.0	1.5±0.7
Triglycerides (g/L)	0.8±0.3	0.9±0.3 *	0.6±0.1	0.8±0.3 *
Total cholesterol (g/L)	1.7±0.4	1.4±0.4	1.4±0.2	1.4±0.2
TG/HDL	1.6±0.6	2.0±0.6 *	1.6±0.7	1.9±0.9 *

MCT = moderate continuous training; HIIT = high-intensity interval training; BMI z-score = body mass index-Z score; HR = heart rate; HOMA-IR = homeostasis model assessment of insulin resistance; TG = triglycerides; HDL = high density lipoprotein

Data are expressed as means ± SDs. \* = significant difference between before and after intervention, p < 0.05.

► **Table 2** Baseline microvascular variables.

	All obese	Obese training group		P value MCT vs HIIT	NW	P value NW vs all obese
		MCT	HIIT			
Basal CBF (PU) <sup>§</sup>	9.8±3.1	10.3±3.0	9.2±3.2	NS	10.0±3.4	NS
Peak CBF (PU)	59.5±27.6	52.3±23.3	65.8±30.3	NS	38.6±14.4	0.014
Peak CVC (PU/mmHg)	7.6±3.2	6.9±2.6	8.1±3.6	NS	5.0±1.9	0.012
Peak CBF/Basal CBF <sup>§</sup>	5.9±2.8	5.3±2.6	6.6±3.0	NS	4.3±1.2	0.062
AUC (PU x sec) <sup>§</sup>	2231±1557	1669±1152	2688±1722	NS	1124±519	0.015

MCT = moderate continuous training; HIIT = high-intensity interval training; NW = Normal-Weight; CBF (%) = cutaneous blood flow (%); CVC = cutaneous vascular conductance; AUC = area under curve. Values are expressed as mean SD.

§: log-transformed data to approach log-normality.

way may be altered to enhance endothelin-1 synthesis, leading to vasoconstriction and reduced blood perfusion. Microvascular function and insulin or HOMA-IR are not significantly associated in OAs. The lack of relationship may be explained by the non-insulin resistant state of the OAs [22]. There is increasing evidence that microvascular dysfunction precedes macrovascular dysfunction, reflecting the early stages of vascular disease [2, 14]. In our study, the

enhanced microvascular reactivity in OAs at baseline may underline the transitory compensatory period during adolescence in obesity [25]. Further research is needed to assess the progression of microvascular dysfunction across the lifespan of obese subjects.

Exercise training is a cornerstone in obese treatment. However, there is no consensus regarding the exercise modalities that are most effective in improving anthropometry, metabolism, aerobic

► **Table 3** Effect of exercise training on vascular variables in both training groups prior to and following the 3-month intervention.

	MCT		HIIT		Time effect	Group effect	Interaction
	Baseline	3 months	Baseline	3 months			
Basal CBF (PU) <sup>‡</sup>	10.3 ± 3.0	12.5 ± 5.4	9.2 ± 3.2	10.9 ± 3.4	0.074	0.316	0.774
Peak CBF (PU)	52.3 ± 23.3	53.7 ± 20.8	65.8 ± 30.3	45.5 ± 15.3	0.129	0.682	0.083
Peak CVC (PU/mmHg) * 10	6.9 ± 2.6	5.9 ± 1.3	8.1 ± 3.6	5.8 ± 2.0	0.174	0.729	0.151
Peak CBF/Basal CBF	5.3 ± 2.6	4.5 ± 1.1	6.6 ± 3.0	3.9 ± 0.9	0.002	0.627	0.066
AUC (PU x sec) <sup>‡</sup>	1669 ± 1152	1843 ± 1021	2688 ± 1723	2733 ± 1559	0.411	0.019	0.555

MCT = moderate continuous training; HIIT = high-intensity interval training; CBF = cutaneous blood flow; CVC = cutaneous vascular conductance; AUC = area under curve. Values are expressed as mean SD.

‡: log-transformed data to approach log-normality.

fitness and vascular function. Our study showed that a 3-month HIIT and MCT have comparable positive effects on body composition and aerobic fitness in OAs. Our results on anthropometric outcomes were in agreement with a meta-analysis of 6 trials [15] comparing HIIT with other forms of exercise in obese children. In accordance with Corte de Araujo et al. [9] which have strictly compared HIIT and MCT in obese children, we found comparable improvement in aerobic fitness after HIIT and MCT. Given the 37% lower energy expenditure in HIIT than MCT, HIIT could be recommended as an applicable exercise for improving body composition and aerobic fitness in childhood obesity.

Although aerobic training results in well-known macrovascular benefits [12], relatively little data are available regarding microcirculation in child obesity. Montero et al. [26] studied the effect of 5-month lifestyle intervention including exercise training associated with hypocaloric diet on microcirculatory function in OAs. The authors did not report any effect of the intervention on peak CBF after acetylcholine and sodium-nitroprusside iontophoresis as well as hyperthermia. Likewise, in our study, the peak CBF and the peak CVC did not change after the training program whatever the modality. However, the peak/basal CBF significantly decreased in both groups due to the basal CBF increase (tendency  $p = 0.074$ ). It is feasible that repeated whole-body exercise bouts that stimulate thermoregulatory cutaneous vasodilatation may induce remodeling, either in the form of enlargement of small arterioles or increases in capillary density [17]. Exercise training is known to be associated with increases of angiogenic factors such as vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor [19]. In fact, Moares et al. [11] reported, by means of intravital video-microscopy, improvement of capillary density with low-intensity aerobic training in patients with type 1 diabetes. In our study, the potential improvement in basal capillary density was not accompanied by changes in capillary recruitment during PORH with exercise training because peak CBF did not increase. Longer exercise training might be applied to improve microcirculation in OAs as previously reported [4, 34].

The present study has several limitations. First, the relatively small sample size and the lack of randomization restrict the possibility of extrapolation to a wider population. Second, the LDF technique cannot measure absolute perfusion but rather uses an arbitrary perfusion unit. Third, MCT and HIIT were not isocaloric; however, taking into account the difference in mean energy cost per session as a covariable did not change our results. Finally, it remains unclear which interventional factor caused the observed results

because diet and exercise may both have a positive separate or synergic effect on anthropometric, metabolic and vascular profiles. However, as all OAs had the same diet, only exercise modalities were different between both OA groups, thus the observed changes can be specifically attributed to training.

## Conclusions

Higher PORH response at baseline in OAs may be the result of compensatory mechanisms that may maintain normal microvascular function. Despite the lower energy cost per session, HIIT appeared to be as effective as MCT to improve body composition, metabolic markers and aerobic fitness in OAs. Conversely, 3 months of a lifestyle program with MCT or HIIT combined with a hypocaloric diet did not improve microvascular function. The improvement in basal CBF may be related to the angiogenic process associated with exercise training. Further studies are required to determine whether longer and/or more intense weight loss programs can enhance microvascular function in this population.

## Acknowledgements

The help from Caroline Sobraques in the management of adolescents with obesity was greatly appreciated. We are grateful to Jordan Loader for English language reviewing.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- [1] Aggoun Y, Farpour-Lambert NJ, Marchand LM, Golay E, Maggio ABR, Beghetti M. Impaired endothelial and smooth muscle functions and arterial stiffness appear before puberty in obese children and are associated with elevated ambulatory blood pressure. *Eur Heart J* 2008; 29: 792–799
- [2] Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, Hildebrand K, Fung M, Verma S, Lonn EM. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: Long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation* 2011; 123: 163–169

- [3] Borrani F, Candau R, Perrey S, Millet GY, Millet GP, Rouillon JD. Does the mechanical work in running change during the VO2 slow component? *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 50–57
- [4] Bruyndonckx L, Hoymans V, De Guchteneere A, Van Helvoirt M, Van Craenenbroeck E, Frederix G, Lemmens K, Vissers D, Vrints C, Ramet J, Conraads V. Diet, exercise, and endothelial function in obese adolescents. *Pediatrics* 2015; 135: 653–661
- [5] Charakida M, Jones A, Falaschetti E, Khan T, Finer N, Sattar N, Hingorani A, Lawlor DA, Smith GD, Deanfield JE. Childhood obesity and vascular phenotypes: A population study. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 2643–2650
- [6] Chin LC, Huang TY, Yu CL, Wu CH, Hsu CC, Yu HS. Increased cutaneous blood flow but impaired post-ischemic response of nutritional flow in obese children. *Atherosclerosis* 1999; 146: 179–185
- [7] Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *BMJ* 2000; 320: 1240–1243
- [8] Conwell LS, Trost SG, Brown WJ, Batch JA. Indexes of insulin resistance and secretion in obese children and adolescents: A validation study. *Diabetes Care* 2004; 27: 314–319
- [9] Corte de Araujo AC, Roschel H, Picanço AR, do Prado DML, Villares SMF, de Sá Pinto AL, Gualano B. Similar health benefits of endurance and high-intensity interval training in obese children. *PLoS One* 2012; 7: e42747
- [10] Cracowski JL, Roustit M. Current methods to assess human cutaneous blood flow: An updated focus on laser-based-techniques. *Microcirculation* 2016; 23: 337–244
- [11] De Moraes R, Van Bavel D, Gomes Mde B, Tibiriçá E. Effects of non-supervised low intensity aerobic exercise training on the microvascular endothelial function of patients with type 1 diabetes: A non-pharmacological interventional study. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 27: 16–23
- [12] Dias KA, Green DJ, Ingul CB, Pavey TG, Coombes JS. Exercise and vascular function in child obesity: A meta-analysis. *Pediatrics* 2015; 136: e648–e659
- [13] Elia M, Livesey G. Energy expenditure and fuel selection in biological systems: The theory and practice of calculations based on indirect calorimetry and tracer methods. *World Rev Nutr Diet* 1992; 70: 68–131
- [14] Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, Hamburg NM, Lüscher TF, Shechter M, Taddei S, Vita JA, Lerman A. The assessment of endothelial function: From research into clinical practice. *Circulation* 2012; 126: 753–767
- [15] García-Hermoso A, García-Hermoso A, Cerrillo-Urbina AJ, Herrera-Valenzuela T, Cristi-Montero C, Saavedra JM, Martínez-Vizcaino V. Is high-intensity interval training more effective on improving cardiometabolic risk and aerobic capacity than other forms of exercise in overweight and obese youth? A meta-analysis. *Obes Rev* 2016; 17: 531–540
- [16] Gidding SS, Daniels SR. Obesity, vascular changes, and the development of atherosclerosis. *J Pediatr* 2016; 168: 5–6
- [17] Green D, Hopman M, Padilla J, Laughlin M, Thijssen D. Vascular adaptation to exercise in humans: role of hemodynamic stimuli. *Physiol Rev* 2017; 97: 495–528
- [18] Harriss DJ, Macsween A, Atkinson G. Standards for ethics in sport and exercise science research: 2018 Update. *Int J Sports Med* 2017; 38: 1126–1131
- [19] Hoier B, Hellsten Y. Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirculation* 2014; 21: 301–314
- [20] Karpoff L, Vinet A, Schuster I, Oudot C, Goret L, Dauzat M, Obert P, Perez-Martin A. Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 94–102
- [21] Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: Molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113: 1888–1904
- [22] Kurtoğlu S, Hatipoğlu N, Mazıcıoğlu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M. Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010; 2: 100–106
- [23] Léger LA, Lambert J. A maximal multistage 20-m shuttle run test to predict VO2 max. *Eur J Appl Physiol* 1982; 49: 1–12
- [24] Monostori P, Baráth A, Fazekas I, Hódi E, Máté A, Farkas I, Hracskó Z, Varga IS, Sümegi V, Gellén B, Bereczki C, Türi S. Microvascular reactivity in lean, overweight, and obese hypertensive adolescents. *Eur J Pediatr* 2010; 169: 1369–1374
- [25] Montero D, Walther G, Perez-Martin A, Roche E, Vinet A. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: Markers and effect of lifestyle intervention. *Obes Rev* 2012; 13: 441–455
- [26] Montero D, Walther G, Perez-Martin A, Mercier CS, Gayraud S, Vicente-Salar N, Sempere-Ortells JM, Martinez-Peinado P, Roche E, Vinet A. Effects of a lifestyle program on vascular reactivity in macro- and microcirculation in severely obese adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 1019–1026
- [27] Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med* 1992; 327: 1350–1355
- [28] Patik JC, Christmas KM, Hurr C, Brothers RM. Impaired endothelium independent vasodilation in the cutaneous microvasculature of young obese adults. *Microvasc Res* 2016; 104: 63–68
- [29] Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med* 2015; 45: 679–692
- [30] Rossi M, Bradbury A, Magagna A, Pesce M, Taddei S, Stefanovska A. Investigation of skin vasoreactivity and blood flow oscillations in hypertensive patients: Effect of short-term antihypertensive treatment. *J Hypertens* 2011; 29: 1569–1576
- [31] Ryder JR, Dengel DR, Jacobs DR, Sinaiko AR, Kelly AS, Steinberger J. Relations among adiposity and insulin resistance with flow-mediated dilation, carotid intima-media thickness, and arterial stiffness in children. *J Pediatr* 2016; 168: 205–211
- [32] Schlager O, Willfort-Ehringer A, Hammer A, Steiner S, Fritsch M, Giurgea A, Margeta C, Lilaj I, Zehetmayer S, Widhalm K, Koppensteiner R, Gschwandtner ME. Microvascular function is impaired in children with morbid obesity. *Vasc Med* 2011; 16: 97–102
- [33] Serdula MK, Collins ME, Williamson DF, Anda RF, Pamuk E, Byers TE. Weight control practices of U.S. adolescents and adults. *Ann Intern Med* 1993; 119: 667–671
- [34] Tew GA, George KP, Cable NT, Hodges GJ. Endurance exercise training enhances cutaneous microvascular reactivity in post-menopausal women. *Microvasc Res* 2012; 83: 223–228
- [35] Tjonna AE, Stølen TO, Bye A, Volden M, Slordahl SA, Odegård R, Skogvoll E, Wisløff U. Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clin Sci* 2009; 116: 317–326
- [36] Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Vanille V, Guy-Grand B, Sidi D, Girardet JP, Bonnet D. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: A prospective study. *Lancet* 2001; 358: 1400–1404

## TRANSITION

Notre étude 1 a montré que quelle que soit la modalité d'entraînement HIIT ou MCT, l'entraînement a été efficace pour améliorer les paramètres de composition corporelle, les paramètres métaboliques ainsi que la condition aérobie des adolescents obèses.

Ces améliorations obtenues avec une durée d'entraînement inférieure en HIIT pourraient favoriser la motivation et l'adhérence des adolescents obèses sur ce type d'exercices.

D'autre part, dans cette étude, nous nous sommes intéressés au seul territoire microcirculatoire, or il a été démontré que les adolescents obèses peuvent présenter des altérations au niveau macrovasculaire. La littérature rapporte également une déficience en VD chez les personnes souffrant d'obésité qui pourrait contribuer aux altérations cardiovasculaires.

Ce qui nous amène à nous poser la question suivante : est-ce qu'une prise en charge incluant une alimentation contrôlée et un programme d'activités physiques à dominante HIIT, combinée à une supplémentation en VD pourrait produire un effet additionnel/synergique sur les paramètres de santé métabolique et vasculaire au niveau macro- et microcirculatoire ?

Les résultats de cette étude 2 – VIDADO ont été traités afin de répondre à 3 questions :

- 1) Y-a-t-il un effet additionnel/synergique d'une supplémentation en VD au cours d'une prise en charge pour perte de poids sur les paramètres cardiométaboliques et le statut inflammatoire chez les adolescents obèses ?
- 2) Y-a-t-il un effet additionnel/synergique d'une supplémentation en VD au cours d'une prise en charge pour perte de poids sur la compliance artérielle et l'épaisseur intima-media ?
- 3) Y-a-t-il un effet additionnel/synergique d'une supplémentation en VD au cours d'une prise en charge pour perte de poids sur les fonctions micro- et macrocirculatoire ?

## **3.2 Etude 2 - article 1**

*Article en cours de finalisation d'écriture*

# **Vitamin D supplementation on cardiometabolic factors and inflammatory status in adolescents with obesity submitted to a weight-loss program.**

Morrissey Christopher; Perez-Martin Antonia; Defoort Catherine; Raverdy Cecile; Masson Cecile; Tardivel Catherine; Sandrine Gayrard, Aurélie Goncalvez; Myriam Carrere, Vinet

Agnes\*, Amiot Marie-Josephe\*

\* corresponding authors

## **Contexte- Hypothèse et Principaux Résultats**

Comme cela a été décrit dans la revue de littérature, l'obésité infantile est associée à une insuffisance en vitamine D (VD) et à des anomalies cardiométaboliques. Si les recommandations de prises en charge de l'obésité des enfants incluent traditionnellement des programmes d'activités physiques et une alimentation contrôlée, la question de l'effet additionnel/synergique d'une supplémentation en VD sur les paramètres cardiométaboliques se pose.

Notre étude a inclu 26 adolescents obèses répartis en deux groupes, un supplémenté en VD et un placebo. Tous les adolescents obèses ont suivi un programme associant un régime hypocalorique et un programme d'entraînement HIIT adapté supervisé pendant 3 mois. Les 26 adolescents obèses ont été appariés avec 23 adolescents normo-pondérés, en fonction de l'âge, du sexe et du stade pubertaire (Flow chart).

Les adolescents obèses ont été randomisés en 2 groupes : l'un avec une supplémentation en VD de 4000 UI / jour dans un verre de jus de fruits (n = 13) (OS) et l'autre sans VD dans le jus de fruit (n = 13) (ONS). À l'inclusion, l'insuffisance 25(OH)D ( $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol} / \text{L}$ ) était plus élevée chez les adolescents obèses (73%) que chez les adolescents normo-pondérés (22%). Tous les facteurs cardiométaboliques adolescents obèses étaient altérés par rapport au normo-pondérés.

Après l'intervention de trois mois, tous les adolescents obèses du groupe supplémenté ont atteint des taux adéquats de 25 (OH) D  $> 50 \text{ nmol}$ , contre seulement 46% pour le groupe placebo. L'intervention a permis d'améliorer les facteurs cardiométaboliques, le statut inflammatoire et les performances physiques, mais la supplémentation en VD n'a pas eu d'effet

supplémentaire. En prenant en compte uniquement les adolescents déficients en vitamine D (25 (OH) D <50 nmol / L) à l'inclusion, une corrélation significative entre la variation de la PTH et de la CRP ( $p= 0.02$ ) a été trouvée dans le groupe supplémenté.

**Title page**

Vitamin D supplementation on cardiometabolic factors and inflammatory status in adolescents with obesity submitted to a weight-loss program.

Authors: Morrissey Christopher<sup>1,2</sup>; Perez-Martin Antonia<sup>3</sup>; Defoort Catherine<sup>2</sup>; Raverdy Cecile<sup>4</sup>; Masson Cecile<sup>4</sup>; Tardivel Catherine<sup>2</sup>; Sandrine Gayrard<sup>1</sup>, Aurélie Goncalvez<sup>5</sup>; Myriam Carrere<sup>6\*</sup>, Vinet Agnes<sup>1\*</sup>, Amiot Marie Josèphe<sup>2,6\*</sup>

Authors' affiliations

<sup>1</sup> LaPEC, University of Avignon, France

<sup>2</sup> NORT, AMU, INRA, INSERM, Marseille, France

<sup>3</sup> Vascular Medicine and Laboratory, Nimes University Hospital, France

<sup>4</sup> SSR Institut Saint Pierre, Palavas-les-Flots, France

<sup>5</sup> Chrome Unit, EA 7352, University of Nîmes, France

<sup>6</sup> MOISA, INRA, CIRAD, CIHEAM, SupAgro, Univ Montpellier,

**Corresponding author:**

\* Agnès VINET, Avignon University, LAPEC EA4278, 74 rue Louis Pasteur , 84000 AVIGNON, France

Tel: +334 90 16 29 30 ; Fax: + 334 90 16 29 01 agnes.vinet@univ-avignon.fr.

\* Marie Josèphe Amiot, PhD, MOISA, INRA, CIRAD, CIHEAM, SupAgro, Univ Montpellier, 2 place Viala, 34060 Montpellier, France +334 99 61 22 46; +334 67 54 58 05 (fax) marie-josephe.amiot-carlin@inra.fr.

**Sources of support:** This research was supported by grants from Nimes University Hospital (France).

**Short running head:** Vitamin D supplementation during weight loss in children

**List of abbreviations:** 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; BMI, body mass index; BP, blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; hs CRP, high sensitivity C-reactive protein; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance index; IL-6, interleukin 6; LDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; MBP, mean blood pressure; NW, normal-weight; OS, obese supplemented with vitamin D; ONS, obese non-supplemented with vitamin D; SBP, systolic blood pressure; SD, standard deviation; TG, triglycerides; TNF, tumor necrosis factor; VD, vitamin D.

**Clinical Trial Registration:** NCT02400151, <https://clinicaltrials.gov/>.

**Abstract**

**Background:** Obesity in children is associated with vitamin D (VD) deficiency status and cardiometabolic abnormalities.

**Objective:** Our trial aimed to analyze the effects of VD supplementation in a lifestyle program submitted to obese adolescents.

**Methods:** Twenty-six obese adolescents (OA) and twenty-three normal-weight (NW) were enrolled and matched on age, gender and puberty stage. OA followed a 3-month weight-loss program combining a reduced caloric diet and interval training physical activity and were randomized into two groups: a VD supplemented (4000 IU/d) (n=13) group (OS) and non-supplemented (n=13) one (ONS). We measured the anthropometry parameters (BMI z-score, fat mass), serum 25(OH)D levels and their associated factor (PTH, Ca) and cardiometabolic factors (triglycerides, HDL, and LDL cholesterol, fasting glucose and insulin, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index; diastolic, systolic and mean blood pressure (DBP, SBP and MBP), inflammatory status) were evaluated before and after 3 months.

**Results:** At inclusion, 25(OH)D concentration was lower in OA than in NW. At baseline, VD insufficiency (25(OH)D levels < 50 nmol/L) was higher in OA (73%) than in NW (22%). All cardiometabolic factors of OA were impaired in comparison with NW. After the 3-month lifestyle intervention, all OS achieved adequate 25(OH)D levels > 50 nmol against only 46% for ONS. Intervention led to improve the cardiometabolic factors, inflammatory status and physical performance, but VD supplementation did not have an additional effect. Taking only the adolescents with vitamin D deficiency (25(OH)D < 50 nmol/L) at baseline, a significant correlation between the change in PTH and CRP (p 0.02) in OS was reported while the increase in 25(OH)D only tended to be correlated with the decrease in CRP.

**Conclusions:** Vitamin D supplementation could reach an adequate status of 25(OH)D but its gain when combined with a weight-loss program was limited on cardiometabolic factors in obese adolescents.

**Key words:** lifestyle program, 25-hydroxyvitamin D, PTH, anthropometry, cardiometabolic factors

## **Introduction**

Vitamin D (VD) deficiency and obesity are two major health concerns worldwide (Holick et al., 2011). The increasing prevalence of early childhood overweight and obesity raises major public health issues (González-Gross et al., 2012) which needs improving lifestyle to avoid further health diseases. Childhood obesity is strongly linked to cardiovascular risk factors, dyslipidemia, insulin sensitivity, inflammatory and oxidative stress profiles (Alemzadeh et al., 2008; Codoñer-Franchet et al., 2012; Reyman et al., 2005). To date, few studies have investigated the VD potential positive effects on cardiometabolic risk factors in obese children and adolescents, and conclusions were inconsistent. Javed et al. (Javed et al., 2015b) (2015) showed no effect of a VD supplementation using a 2000 IU maximal dose on insulin action in obese nondiabetic adolescents with a correct VD status, while Belenchia et al. (2013) demonstrated the efficacy of 4000 IU VD3 for correcting VD insufficiency and improving insulin sensitivity in obese adolescents.

The classical approach for weight loss management of childhood obesity included diet and physical activity program (Kelishadi et al., 2015; Montero et al., 2012; Ribeiro et al., 2005; Watts et al., 2004). Weight loss program associated with diet and/or exercise training reduced body fat mass and inflammation (Sluhsher et al., 2015) and improved not only insulin sensitivity but also lipid profile in obese children (Strasser, 2013 ; Montero et al., . 2012; Bruyndonckx et al., 2015). Two reviews of the literature drew the conclusion that a weight loss management including diet or both diet and physical activity led to normalization of 25(OH)D level in obese adult population (Gangloff et al., 2015; Pannu et al., 2016). However, data in obese children are still limited (Apovian et al. 2009; Reinehr et al., 2007). We hypothesized that a lifestyle intervention combining VD supplementation would result in valuable health benefits in obese adolescents.

The present double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study aimed to evaluate the possible added effects of VD supplementation with a lifestyle program including diet and exercise on body composition, aerobic fitness and cardiometabolic risk factors (e.g., blood pressure, insulin resistance, lipid and inflammation profiles) in obese adolescents.

## **Methods**

### **Study population**

Twenty-six obese adolescents, 12 to 17 years old, were enrolled in a pediatric weight management clinic and 23 puberty and season-matched normal-weight controls were volunteers (Figure 1). As reported by Gutierrez et al (Gutiérrez Medina et al., 2015), the pubertal status should be taken into account when assessing obesity-related VD deficiency. Obesity was defined according to the age and gender-specific cut-off points of childhood obesity as indicated by the International Obesity Task Force (Cole et al., 2000). Exclusion criteria were: history or presence of premature cardiovascular or metabolic disease in a first-degree family member, active smoking, regular intake of any medication, pubertal status (less than Tanner stage 2) and not taking VD supplementation. For obese, specific exclusion criteria were weight loss larger than 5% of their total weight during the previous 3 months, and for normal-weight adolescents (NW), body mass index (BMI) above the 90<sup>th</sup> percentile for gender and age. To minimize the potential moderating effect of physical activity, adolescents who participated in extra-school sport activities more than three hours per week were not included.

### **Study Design**

Obese subjects (36) were voluntary to follow a weight loss program consisting of diet and exercise training for 3 months in a pediatric weight-management center. They were informed

to participate to a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study, from April 2015 to July 2015 (1<sup>st</sup> group) and from April 2016 to July 2016 (2<sup>nd</sup> group). Seven adolescents refused to be enrolled in the study, two were considered ineligible for medical reasons, and one arrived after the start date of the program. Finally, 26 were eligible to be recruited and 24 (10 males and 14 females) completed the whole study. The obese adolescents were randomized by blocks of random size (2 or 4), with a 1:1 ratio into two arms, (1) supplemented obese (OS group) with 4000 IU/d of vitamin D3 (UVEDOSE 100000 UI / 2 mL, Crinex laboratory, France) given in a fruit juice (n=13) and (2) obese who received a fruit juice without vitamin D3 (ONS group) (n=13). We referred to the result showing that vitamin D3 has been shown to be equally bioavailable in orange juice and capsules (Biancuzzo et al, 2010). Generation of the randomization list was done with SAS software version 9.4. The inclusion of the obese adolescents was carried out with the INCLUSIO software, developed by the University hospital of Nimes (France). Each inclusion was made with a secure individual connection using a login and a password.

All obese adolescents received an identical moderately hypocaloric diet (reduction of 300 to 500 calories per day) based on a balanced distribution of carbohydrates (55%), proteins (15%), and lipids (30% total, with less than 10% saturated fat) (Reinehr et al., 2007). During the 3 months, exercise training consisted of 180 min/week supervised moderate-to-vigorous intensity exercise. Each session mostly involved aerobic exercise, including training circuit, boxing, basket-ball and Nordic walk with alternating short periods of high-intensity exercise interspersed among period of lower intensity, as previously published (Morrisey et al, 2018).

Twenty-three healthy normal-weight puberty- and season-matched adolescents were recruited from the community to serve as controls at baseline and after 3-months.

The study protocol was approved by the local Ethics Committee and performed in accordance with the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Informed consent was obtained from all the adolescents and their parents.

### **Dietary assessment**

All participants were asked to complete two survey questionnaires. The first was to assess the total energy dietary intake quantifying three-day dietary records; the second to assess their usual pattern of dietary intake by using a food-frequency questionnaire containing calcium and vitamin D related nutrients.

### **Outcome measures**

#### **Anthropometry, body composition and skin tone**

Anthropometry and body composition, metabolic parameters and aerobic fitness were assessed at baseline and after three months of intervention. BMI was calculated as weight in kilograms divided by height in squared meters ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ); and BMI z-scores were also calculated. Dual-energy X-ray absorptiometry (QDR 2000 – Discovery, Hologic, Bedford, MA) was performed in obese adolescents before and after the program and in NW only at baseline. Body fat mass and abdominal fat mass were reported (Cole et al., 2000). Skin tone was categorized in light, mid color and dark (Reyman et al., 2014).

#### **Aerobic fitness test**

Only obese adolescents performed the 20-meter shuttle run test (Léger et al., 1982). Initial running speed was  $8.0 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  and increased by  $0.5 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  every minute. Adolescents were instructed and encouraged to complete as many stages as possible until volitional exhaustion.

Maximal heart rate (Polar) at the end of the test as well as the number of shuttles (20 m) was measured.

### **VD, PTH and calcium status, cardiometabolic risk factors and inflammatory status**

25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and calcium were measured in venous blood samples after overnight fasting at baseline and after 3 months as well glycemia, insulin, lipid profile (triglycerides, TG; total cholesterol, TC, high-density lipoprotein, HDL-C; low-density lipoprotein, LDL-C), inflammatory (ultrasensitive C-reactive protein, hs-CRP; tumor necrosis factor, TNF; interleukin-6, IL-6; leptin) and anti-inflammatory (adiponectin) markers. All the measures were realized 24h after the last training session at the end of the 3-month lifestyle intervention followed by obese adolescents. LDL-C was computed by using Friedwald's formula ( $LDL-C \text{ (mmol/l)} = TC \text{ (mmol/L)} - HDL-C \text{ (mmol/L)} - TG \text{ (nmol/L)} \times 0.5$ ). Insulin resistance was expressed by using the homeostasis model assessment of insulin resistance index ( $HOMA-IR = \text{glycemia (mmol/L)} \times \text{insulinemia (mU/L)} / 22.5$ ) (Bonora et al., 2002). Hs-CRP,  $TNF\alpha$ , IL-6, adiponectin and leptin were measured in serum samples using commercially available ELISA kits purchased from R&D systems (Minneapolis, USA) according to the manufacturer's specifications. For analysis of hs-CRP, adiponectin and leptin serum samples were diluted 1:100 with sample diluent prior to analysis.

### **Statistical analysis**

All statistical analyses were performed using the free R software (R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>). All variables were expressed as median and their associated dispersion index such as 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> quartiles. As far as our sample involve 26

obese adolescents (versus 23 control teenagers) divided into two balanced groups (between OS and ONS), and due to the fact that variables were not normally distributed (even after a log-transformation to approximate normality), we performed non-parametric tests. Differences in baseline characteristics of adolescents between NW and obese adolescents and between OS and ONS were compared using Wilcoxon exact tests implemented in the {coin}-R package (Torsten et al., 2006 and 2008).

The delta changes rate ( $\Delta$ ) in OA and in the both groups OS and ONS were analyzed using correlation. Bivariate associations between  $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ ,  $\Delta \text{PTH}$   $\Delta \text{PTH}/25(\text{OH})\text{D}$  and  $\Delta$  variables were determined by calculating Spearman's correlation coefficients. A p-value  $< 0.05$  was considered statistically significant, and  $0.05 < \text{p-value} < 0.1$  reflected a tendency.

## **Results**

### **Baseline characteristics of subjects**

At baseline, normal-weight NW and obese groups were matched on age, gender and Tanner stage (Tables 1 and 2). Obese adolescents had significant lower 25(OH)D status than NW ones ( $44.2 \pm 13.8$  vs  $61.1 \pm 12.9$  nmol/L,  $p < 0.05$ ). Note that VD insufficiency (25(OH)D levels  $< 50$  nmol/L) was higher in obese adolescents (73%) than in NW subjects (22%). At baseline, obese adolescents had worse values in blood pressures, in fat and glucose metabolism, in inflammatory status than NW. If the systolic and diastolic blood pressures (SDP and DBP) were higher and lower, respectively, in obese than NW, no hypertension was depicted. Insulin, HOMA-IR and TG were also higher in obese than NW (+116%, +113% and +43%, respectively), and HDL-C levels were lower (-33%). Thus, TG/HDL-C was greatly higher in obese than NW adolescents. The mean of TG/HDL-C was superior that the cut-off previously

defined as a metabolic syndrome indicator in children (Daniels et al., 2013). A slight difference was found for the glycated hemoglobin (HbA1c), that was higher in obese than NW. Insulin values of obese were up the threshold ( $>100$  pmol/L) as defined “at risk” levels by Delvin et al (2010). No significant differences were observed for calcium, resting heart rate (Resting HR), and LDL-C between obese and NW groups. However, obese adolescents had higher hs-CRP, IL-6 and leptin levels and lower adiponectin levels than NW ones.

The baseline characteristics between the both obese groups, VD supplemented (OS) and non-supplemented (ONS) were reported in Table 2. The both groups were identical for the clinical and metabolic variables assayed, except for PTH, DBP, insulin and HOMA-IR that showed an insulin resistance state of OS, according the insulin resistance previously defined by HOMA-IR index  $> 3.16$  (Keskin et al., 2005).

### **Changes for clinical and metabolic variables after 3-mo intervention in VD supplemented (OS) and non-supplemented (ONS) obese adolescents**

As expected with lifestyle intervention, both OS and ONS groups achieved significant reduction in anthropometric variables. Significant changes were observed for BMI, BMI z-score, fat mass and abdominal fat mass in OS and ONS groups. After 3 months, serum 25(OH)D significantly increased in OS and ONS, without any significant difference between the both groups (59% vs 43%). 25(OH)D increase in the both groups was due to both sun exposure and outdoor physical activity during the intervention study. In NW, after 3 months, an increase in serum 25(OH)D was also observed (+20%, data not shown). Note that all OS achieved adequate 25(OH)D levels  $> 50$  nmol against only 46% for the ONS after the 3-month lifestyle program. After the 3-month lifestyle program, all the cardiometabolic variables were improved in the both groups OS and ONS. The HOMA-IR (express in median) was strongly reduced in the both groups (-45% in OS,  $p<0.001$  and -34%, in ONS,  $p<0.001$ ). A significant difference between the both groups remained for HOMA-IR after the 3-month intervention. Interestingly, HOMA-IR in ONS was

< 3.16 (the cut-off previously defined for insulin resistance (Kerstin et al., 2015), while in OS only the first quartile displayed a < 3.16 value. For the both groups OS and ONS, the lipid profiles were statistically improved after intervention with less TG (-41% and -22%, respectively), total cholesterol (-17% and -20%), LDL-C (-27,5% and -26%) levels than at baseline (p values <0.001 for all the lipid variables), whereas no significant effect was found for HDL-C. No statistical differences for all the lipid parameters were observed between OS and ONS. Intervention led also to a statistically significant reduction of inflammatory markers in the both groups OS and ONS: CRP (-17% and -59%, respectively), TNF (-14% and -18%), IL-6 (-34% and -47%) and leptin (-53% and -44%) (p values <0.001). Significant difference between OS and ONS groups were shown for CRP and a tendency was found for IL-6.

**Correlations between changes in 25(OH)D or PTH or PTH/25(OH)D and cardiometabolic variables in all OA, OS and ONS displaying deficiency in VD.**

When taken all obese adolescents (18 subjects, 9 OS and 9 ONS) displaying deficiency in VD, the change in 25(OH)D was strongly negatively correlated with the change TG/HDL-C ( $r = -0.7$ ,  $p < 0.001$ ) and the change in PTH/25(OH)D was negatively correlated with BMI z score ( $r = -0.51$ ,  $p < 0.04$ ). Moreover, the change in PTH/25(OH)D was negatively correlated with the changes in SBP ( $r = -0.53$ ,  $p = 0.03$ ). Correlations were maintained when adjusted for gender and skin tone (data not shown).

When analyzing the supplemented group (OS) the strongest correlations were obtained between the changes in PTH and DBP ( $r = -0.86$   $p = 0.01$ ), MBP ( $r = -0.89$   $p < 0.001$ ). Correlations were significantly maintained when analyzing the changes in PTH/25(OH)D and blood pressure variables (DBP and MBP). Note that these correlations did not exist in ONS group. We found a significant correlation between the change in PTH and CRP ( $p = 0.02$ ) while the increase in 25(OH)D only tends to be correlated the decrease in CRP ( $p = 0.1$ ).

When taking the ONS, the change in PTH was significantly correlated with the changes in glycemia and HOMA-IR and a significant correlation was maintained between the change in PTH/25(OH)D and the change in glycemia, whereas no significant effect was found in supplemented group (OS).

## **Discussion**

The present study confirmed that paediatric obesity impairs many clinical and cardiometabolic variables. Notably, we found in obese adolescents who were enrolled in the lifestyle program a prevalence of insulin resistance, higher TG/HDL-C ratio and inflammatory status compared with normal-weight adolescents. TG/HDL-C was reported helpful in predicting increased arterial stiffness in young subjects who have developed obesity (Urbina et al, 2013). The latter authors showed that high TG/HDL-C ratio group had the stiffest vessels. In our study, insulin and HOMA-IR values of obese adolescents were upper the unfavourable thresholds previously established by Delvin et al (2010) and Keskin et al (2005), i.e. >100 pmol/L and >3.16, respectively. As other previous cross-sectional studies (Gul et al., 2017 ; Holmlund-Suila et al., 2016; Rajakumar et al., 2008 ) we associated low serum 25(OH)D concentrations with obesity in adolescents. In our study, a deficiency status in 25(OH)-D below 50 nmol/L (equal to 20 ng/mL), as defined in French guidelines (ANSES, 2016) was found for 70% of obese participants. Obesity-related VD insufficiency could be explained by numerous factors: sun underexposure, inadequate intake of VD rich foods and beverages, genetic factors (Ruiz-Ojeda et al., 2018), the sequestration of this fat-soluble vitamin and its volumetric dilution (Drincic et al., 2012; Wortsman et al., 2000). Cutaneous VD production varies according to latitude, seasonality, skin pigmentation, the frequency and the time in sun exposure, the type of clothing... Obese children are in general insufficiently exposed to sunlight. Regarding intake, foods rich in VD such as fatty fish are rarely eaten by children, which we confirmed in our

study (data not shown). The sequestration hypothesis postulated for a decreased bioavailability of vitamin D<sub>3</sub> from cutaneous and dietary sources because of its storage in body fat compartments, whereas volumetric dilution is more about the greater volume of distribution of 25(OH)D in obese individual tissue mass (Drincic et al., 2012 ; Gangloff et al., 2015). Both storage and dilution of VD in the body fat mass make VD physiologically unavailable to circulate in blood and be transformed via the liver and kidneys into its biologically active form. Suboptimal VD status has been associated with abnormalities in metabolic regulation (insulin resistance, hyperlipidemia, hypertension) in children (Barja-Fernandez et al., 2018; Gilbert-Diamond et al., 2010). Even the benefit role of VD was reported plausible in obesity and their associated diseases though many cross-sectional studies, the causality of vitamin D remains not proven.

Our trial indicated an increase of 25(OH)D levels in the ONS group after the 3-month lifestyle program that suggests a possible release of VD during weight loss without VD supplementation. Improvements of circulating 25(OH)D levels in obese adults with adiposity loss through lifestyle interventions without supplementation have been reported (Gangloff, et al., 2015 ; Pannu et al., 2016). Our trial was carried in the South of France during a more and less sunny period that could contribute to endogenous VD biosynthesis. This was validated by the normal-weight adolescent control group, in which the mean level of 25(OH)D was also increased by 20% (data not shown). However, our results showed that only in the OS group, adolescents achieved satisfactory 25(OH)D plasma levels (close to 75 nmol/L). Those results obtained in OS adolescents are in accordance with evidence from studies reporting efficacy and safety of 4000 IU vitamin D<sub>3</sub> (Belanchia et al., 2013).

Taking only the adolescents with vitamin D deficiency (25(OH)D < 50 nmol/L) at baseline, the 3-month lifestyle program significantly improved their PTH/25(OH)D which is negatively correlated to BMI z score. A tendency was shown between a higher increase in 25(OH)D and

a higher decrease of fat mass loss (p close to 0,1), while previous studies reported a significant linear increase in circulating 25(OH)D levels as a function of adiposity volume in obese adults (Gangloff et al., 2015; Rosenblum et al., 2012)( Gangloff et al., 2015; Rosenblum et al., 2012; Steveling et al., 2015). Interestingly, even the both groups displayed adequate blood pressures, the 25(OH)D increase was significantly correlated with the decrease of DBP and MBP in the supplemented group. Our result is not concordant with a previous intervention trial in which no changes or differences were seen in systolic or diastolic blood pressures (Dong et al., 2010). However, in different studies including adolescent populations, 25(OH)D deficiency was associated with elevated diastolic blood pressure (Pacifico et al., 2011; Tomaino et al., 2015). Petersen et al. (2015) showed that each 10 mmol/L serum 25(OH)D increase was associated with lower diastolic blood pressure (-0.3 mmHg, 95% confidence interval -0.6, -0.0) (P = 0.02), which was independent of the fat mass index (Petersen et al., 2014). When taken the meta-analysis of Whitman et al. (2009) combining 11 randomized trials enrolling adults, a small reduction in diastolic blood pressure was found in hypertensive subjects supplemented in VD. VD status increase was shown to be associated with PTH decrease, and higher serum PTH concentration was linked with impaired endothelial function. PTH was reported to have different potential molecular mechanisms that could contribute to beneficial impact on hypertension (Yi et al., 2018). Thus, improving the ratio PTH/25(OH)D could be taken as an indicator to prevent cardiovascular risk.

Our study did not enhance any additional effect of VD supplementation on glycemia and estimated insulin resistance expressed by HOMA-IR while insulin sensitivity improvement was observed following vitamin D supplementation (Zuk et al., 2016). Our result was in concordant with a intervention trial enrolling overweight and obese adults supplemented in VD and submitted to resistance exercise training (Carillo et al., 2013). Surprisingly, in our trial, significant effect was obtained in the non-supplemented group that suggests an annihilation of

VD supplementation compared with the sole lifestyle program on the glucose metabolism. We hypothesized that the high dose of VD given in our study could be incriminated and further studies are needed to evaluate the dose-effect. In fact, in a recent meta-analysis comprising different populations (adults, obese, women...) showed that there is a nonlinear association between VD status and percentage fat mass in dose-effect analysis and no beneficial effect was observed with increasing dose upper 2000 UI (Golzarand et al, 2018).

Our study did not prove a significant addition role of VD supplementation on lipid metabolism as previously mentioned in other studies (Nwosu et al., 2013; Smotkin-Tangorra et al., 2007). In children with severe obesity, it has been reported that 25(OH)D concentrations were positively associated with HDL-C levels (Anoop et al., 2017).

Finally, if CRP was mostly reduced in ONS, we found a positive association between changes in PTH concentrations or PTH/25(OH)D and CRP levels in OS ( $p=0.02$  and  $0.07$  respectively). VD was reported to have anti-inflammatory actions as reported by Querfeld et al. (2013).

Our study has several limitations: the relatively small cohort size including both girls and boys), the OS group displayed classic signs of insulin resistance at baseline, the use of a single supplementation and the assessment of serum at only two time points. Unfortunately, we did not measure the active metabolite 1,25(OH)<sub>2</sub>D in our cohort, neither 25-hydroxylase activity nor synthesis of vitamin D-binding proteins.

Our study protocol has strengths because dietary intakes (VD, calcium), seasonality, sun exposure time were the same in the both obese groups. We controlled the pubertal status that may play a role in changes in BMI, lipid and glucose levels.

In conclusion, the combination of exercise including recreational intermittent physical activities with a healthy diet adherence had strong positive effects on different cardio-metabolic parameters. Vitamin D supplementation even allowed an adequate status of 25(OH)D and did

have additional beneficial effects on cardiometabolic factors and their associated factors. Further studies are needed to specify the dose-effect and to prolong the duration of VD supplementation in larger obese adolescent population.

### **Acknowledgments**

Address all correspondence and requests for reprints to [marie-josephe.amiot-carlin@inra.fr](mailto:marie-josephe.amiot-carlin@inra.fr).

This study was sponsored by the University hospital in Nîmes.

Disclosure Summary: The authors have nothing to disclose.

## **References**

Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism*. 2008 Feb;57(2):183–91.

Apovian C, Bigornia S, Cullum-Dugan D, Schoonmaker C, Radziejowska J, Phipps J, et al. Milk-Based Nutritional Supplements in Conjunction With Lifestyle Intervention in Overweight Adolescents. *Infant Child Adolesc Nutr*. 2009 Feb;1(1):37–44

Barja-Fernandez S, Aguilera CM, Martinez-Silva I, Vazquez R, Gil-Campos M, Olza J, et al: 25 Hydroxyvitamin D levels of children are inversely related to adiposity assessed by body mass index. *J Physiol Biochem* 2018; 74: 111–118.

Belenchia AM, Tosh AK, Hillman LS, Peterson CA. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013 Apr;97(4):774–81.

Biancuzzo RM, Young A, Bibuld D, Cai MH, Winter MR, Klein EK, et al. Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jun;91(6):1621–6.

Bonora E, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, Marini F, Zenari L, et al. HOMA-estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2002 Jul;25(7):1135–41.

Bruyndonckx L, Hoymans VY, De Guchtenaere A, Van Helvoirt M, Van Craenenbroeck EM, Frederix G, et al. Diet, exercise, and endothelial function in obese adolescents. *Pediatrics*. 2015 Mar;135(3):e653-661.

Carrillo AE, Flynn MG, Pinkston C, Markofski MM, Jiang Y, Donkin SS, et al. Impact of vitamin D supplementation during a resistance training intervention on body composition, muscle function, and glucose tolerance in overweight and obese adults. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2013 Jun;32(3):375–81.

Codoñer-Franch P, Tavárez-Alonso S, Simó-Jordá R, Laporta-Martín P, Carratalá-Calvo A, Alonso-Iglesias E. Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. *J Pediatr*. 2012 Nov;161(5):848–54.

Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000 May 6;320(7244):1240–3.

Daniels SR, Kimball TR. Triglyceride to HDL-C ratio and increased arterial stiffness in children, adolescents, and young adults. *Pediatrics*. 2013 Apr;131(4):e1082-90. doi: 10.1542/peds.2012-1726. Epub 2013 Mar 4. Erratum in: *Pediatrics*. 2013 Oct;132(4):780

Dong Y, Stallmann-Jorgensen IS, Pollock NK, et al. A 16-week randomized clinical trial of 2000 international units. *Endocrinol Metab* 2010 ; 95, 4584–4591

Drincic AT, Armas LAG, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obes Silver Spring Md.* 2012 Jul;20(7):1444–8.

Gangloff A, Bergeron J, Pelletier-Beaumont E, Nazare JA, Smith J, Borel AL, et al. Effect of adipose tissue volume loss on circulating 25-hydroxyvitamin D levels: results from a 1-year lifestyle intervention in viscerally obese men. *Int J Obes* 2005. 2015 Nov;39(11):1638–43

Gilbert-Diamond D, Baylin A, Mora-Plazas M, Marin C, Arsenault JE, Hughes MD, et al.

Vitamin D deficiency and anthropometric indicators of adiposity in school-age children: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 2010; 92: 1446–1451.

González-Gross M, Valtueña J, Breidenassel C, Moreno LA, Ferrari M, Kersting M, et al. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *Br J Nutr.* 2012 Mar;107(5):755–64.

Golzarand M, Hollis BW, Mirmiran P, Wagner CL, Shab-Bidar S. Vitamin D supplementation and body fat mass: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2018 Oct;72(10):1345-1357.

Gul A, Ozer S, Yılmaz R, Sonmezgoz E, Kasap T, Takcı S, Demir O. Association between vitamin D levels and cardiovascular risk factors in obese children and adolescents. *Nutr Hosp.* 2017 Mar 30;34(2):323-329

Gutiérrez Medina S, Gavela-Pérez T, Domínguez-Garrido MN, Gutiérrez-Moreno E, Rovira A, Garcés C, et al. The influence of puberty on vitamin D status in obese children and the possible

relation between vitamin D deficiency and insulin resistance. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2015 Jan;28(1–2):105–10

Hjelmsaeth J, Hofsø D, Aasheim ET, Jenssen T, Moan J, Hager H, et al. Parathyroid hormone, but not vitamin D, is associated with the metabolic syndrome in morbidly obese women and men: a cross-sectional study. *Cardiovasc Diabetol*. 2009 Feb 3;8:7.

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jul;96(7):1911–30.

Holmlund-Suila E, Pekkinen M, Ivaska KK, Andersson S, Mäkitie O, Viljakainen H. Obese young adults exhibit lower total and lower free serum 25-hydroxycholecalciferol in a randomized vitamin D intervention. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016 Sep;85(3):378-85.

Iqbal AM, Dahl AR, Lteif A, Kumar S. Vitamin D Deficiency: A Potential Modifiable Risk Factor for Cardiovascular Disease in Children with Severe Obesity. *Children* 2017, 4, 80.

Javed A, Vella A, Balagopal PB, Fischer PR, Weaver AL, Piccinini F, et al. Cholecalciferol supplementation does not influence  $\beta$ -cell function and insulin action in obese adolescents: a prospective double-blind randomized trial. *J Nutr*. 2015 Feb;145(2):284–90.

Kelishadi R, Mirmoghtadaee P, Najafi H, Keikha M. Systematic review on the association of abdominal obesity in children and adolescents with cardio-metabolic risk factors. *J Res Med Sci Off J Isfahan Univ Med Sci*. 2015 Mar;20(3):294–307.

Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, et al. Homeostasis Model Assessment Is More Reliable Than the Fasting Glucose / Insulin Ratio and Quantitative Insulin Sensitivity Check Index for Assessing Insulin Resistance Among Obese Children and Adolescents. *Pediatrics*. 2005;115(4):500–503

Léger LA, Lambert J. A maximal multistage 20-m shuttle run test to predict VO<sub>2</sub> max. *Eur J Appl Physiol*. 1982;49(1):1–12.

Montero D, Walther G, Perez-Martin A, Roche E, Vinet A. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. 2012 May;13(5):441–55

Nwosu BU, Maranda L, Cullen K, Ciccarelli C, Lee MM. Vitamin D status is associated with early markers of cardiovascular disease in prepubertal children. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2013;26(11–12):1067–75

Querfeld U. Vitamin D and inflammation. *Pediatr Nephrol*. 2013 Apr;28(4):605-10.

Pacifico L, Anania C, Osborn JF, Ferraro F, Bonci E, Olivero E, et al. Low 25(OH)D<sub>3</sub> levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur J Endocrinol*. 2011 Oct;165(4):603–11.

Pannu PK, Zhao Y, Soares MJ. Reductions in body weight and percent fat mass increase the vitamin D status of obese subjects: a systematic review and metaregression analysis. *Nutr Res N Y N*. 2016 Mar;36(3):201–13.

Petersen RA, Dalskov SM, Sørensen LB, Hjorth MF, Andersen R, Tetens I, et al. Vitamin D status is associated with cardiometabolic markers in 8-11-year-old children, independently of body fat and physical activity. *Br J Nutr.* 2015;114:1647–55.

Rajakumar K, Fernstrom JD, Holick MF, Janosky JE, Greenspan SL. Vitamin D status and response to Vitamin D(3) in obese vs. non-obese African American children. *Obesity (Silver Spring).* 2008 Jan;16(1):90-5.

Reinehr T, de Sousa G, Alexy U, Kersting M, Andler W. Vitamin D status and parathyroid hormone in obese children before and after weight loss. *Eur J Endocrinol.* 2007 Aug;157(2):225–32.

Reyman M, Verrijn Stuart AA, van Summeren M, Rakhshandehroo M, Nuboer R, de Boer FK, et al. Vitamin D deficiency in childhood obesity is associated with high levels of circulating inflammatory mediators, and low insulin sensitivity. *Int J Obes* 2005. 2014 Jan;38(1):46–52.

Ribeiro MM, Silva AG, Santos NS, Guazzelle I, Matos LNJ, Trombetta IC, et al. Diet and exercise training restore blood pressure and vasodilatory responses during physiological maneuvers in obese children. *Circulation.* 2005 Apr 19;111(15):1915–23.

Rosenblum JL, Castro VM, Moore CE, Kaplan LM. Calcium and vitamin D supplementation is associated with decreased abdominal visceral adipose tissue in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr.* 2012 Jan;95(1):101–8.

Ruiz-Ojeda FJ, Anguita-Ruiz A, Leis R, Aguilera CM. Genetic Factors and

Molecular Mechanisms of Vitamin D and Obesity Relationship. *Ann Nutr Metab.*

2018;73(2):89-99.

Slusher AL, McAllister MJ, Huang C-J. A therapeutic role for vitamin D on obesity-associated inflammation and weight-loss intervention. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc Al.* 2015 Aug;64(8):565–75.

Smotkin-Tangorra M, Purushothaman R, Gupta A, Nejati G, Anhalt H, Ten S. Prevalence of vitamin D insufficiency in obese children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM.* 2007 Jul;20(7):817–23

Steveling A, Ittermann T, Hegenscheid K, Nauck M, Linneberg A, Wallaschofski H. Adiposity measures and vitamin D concentrations in Northeast Germany and Denmark. *Nutr Metab (Lond).* 2015 Jun 10;12:24.

Strasser B. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2013 Apr;1281:141–59.

Tomaino K, Romero KM, Robinson CL, Baumann LM, Hansel NN, Pollard SL, et al. Association between serum 25-hydroxy Vitamin D levels and blood pressure among adolescents in two resource-limited settings in Peru. *Am J Hypertens.* 2015;28:1017–23.

Torsten Hothorn, Kurt Hornik, Mark A. van de Wiel and Achim Zeileis. A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* 2006; 60(3), 257-263.

Torsten Hothorn, Kurt Hornik, Mark A. van de Wiel, Achim Zeileis. Implementing a Class of Permutation Tests: The coin Package. *Journal of Statistical Software* 2008; 28(8), 1-23. URL <http://www.jstatsoft.org/v28/i08/>).

Watts K, Beye P, Siafarikas A, O’Driscoll G, Jones TW, Davis EA, et al. Effects of exercise training on vascular function in obese children. *J Pediatr*. 2004 May;144(5):620–5.

Witham MD, Nadir MA & Struthers AD) Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens* 2009; 27, 1948–1954.

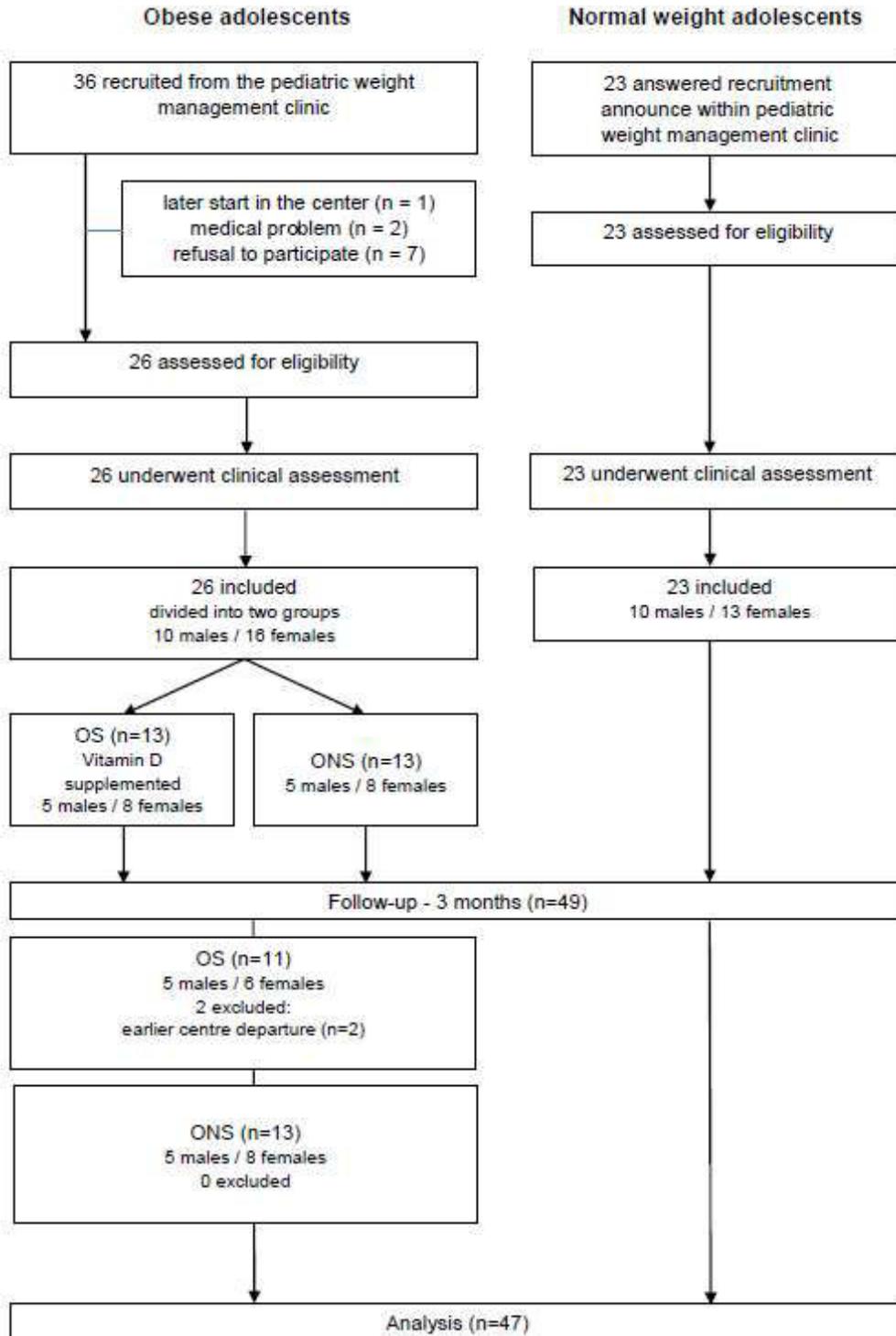
Wong KE, Kong J, Zhang W, Szeto FL, Ye H, Deb DK, et al. Targeted expression of human vitamin D receptor in adipocytes decreases energy expenditure and induces obesity in mice. *J Biol Chem*. 2011 Sep 30;286(39):33804–10.

Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000 Sep;72(3):690-3. Erratum in: *Am J Clin Nutr*. 2003 May;77(5):1342

Yi Zhanga, Dian-zhong Zhangb. Circulating parathyroid hormone and risk of hypertension: A meta-analysis *Clinica Chimica Acta* 2018 482: 40-45

Zuk A, Fitzpatrick T, Rosella LC. Effect of Vitamin D3 Supplementation on Inflammatory Markers and Glycemic Measures among Overweight or Obese Adults: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *PloS One*. 2016;11(4):e0154215.

FLOW CHART



**Table 1.** Baseline characteristics of participants.

Characteristics	All obese* (n=26)	Normal-weight (n=23)	P value All obese vs NW
Age-yr	14.4 ± 1.6	14.8 ± 1.5	0.324
Sex (M-F)	10-16	10-13	0.728
Tanner stage	3.6 ± 0.8	3.4 ± 1.0	0.358
BMI (kg.m <sup>2</sup> )	33.8 ± 3.2	19.6 ± 2.4	<b>&lt;0.0001</b>
BMI Z-score	4.0 ± 0.6	0.2 ± 0.8	<b>&lt;0.0001</b>
Fat mass (%)	41.3 ± 4.2	22.7 ± 6.8	<b>&lt;0.0001</b>
Abdominal fat mass (kg)	43.1 ± 3.6	22.7 ± 8.1	<b>&lt;0.0001</b>
Lean mass (kg)	53.0 ± 7.5 log	39.2 ± 7.6	<b>&lt;0.0001</b>
25(OH)D	44.2 ± 13.8	61.1 ± 12.9	<b>&lt;0.001</b>
n deficiency in 25(OH)D < 37.5 nmol/L	8	0	-
n insufficiency in 25(OH)D < 50 nmol/L	18	5	-
Calcium (mmol/L)	2.28 ± 0.06	2.28 ± 0.08	0.735
PTH (mmol/L)	114.0 ± 9.8	103.8 ± 7.0	<b>&lt;0.001</b>
SBP (mmHg)			
DBP (mmHg)	61.5 ± 5.1	65.6 ± 6.1	<b>0.007</b>
MBP (mmHg)	79.4 ± 5.7	79.0 ± 5.5	0.833
Resting HR (bpm)	66.5 ± 11.1	63.4 ± 7.0	0.640
Number of 20m log	36.1 ± 13.0	-	-
Maximal HR (bpm)	196.3 ± 9.8	-	-
Insulin (μUI/L)	133.11 ± 58.92	61.44 ± 30.80	<b>&lt;0.0001</b>
HOMA-IR	4.7 ± 2.3	2.20 ± 1.12	<b>&lt;0.0001</b>
HbA1c (%)	5.37 ± 0.37	5.25 ± 0.25	0.099
Triglycerides (g/L)	0.87 ± 0.34	0.61 ± 0.23	<b>&lt;0.0001</b>
HDL-C (g/L)	0.43 ± 0.11	0.65 ± 0.16	<b>&lt;0.0001</b>
LDL-C (g/L)	1.00 ± 0.31	0.93 ± 0.18	0.754
TG/HDL	2.21 ± 1.27	0.97 ± 0.50	<b>&lt;0.0001</b>
CRP (mg/mL)	7.28 ± 5.08	1.61 ± 2.63	<b>&lt;0.0001</b>
IL-6 (pg/mL)	2.33 ± 0.65	0.98 ± 0.66	<b>&lt;0.0001</b>
Adiponectin (μg/mL)	5.63 ± 2.30	7.35 ± 2.73	<b>0.025</b>
Leptin (ng/mL)	29.00 ± 12.94	6.28 ± 4.77	<b>&lt;0.0001</b>

bsBMI, body mass index based; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure; HR, heart rate; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance index; HbA1c, glycated hemoglobin; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin 6. Significant p-values are written in bold.

**Table 1.** Characteristics of participants before and after intervention.

Characteristics	Time	OS (n=13)				ONS (n=13)				P value			
		Mean	Median	P25	P75	Mean	Median	P25	P75	T0 (Os vs ONS)	T3 vs T0 OS	T3vs T0 ONS	T3 Os vs ONS)
Age-yr	T0	14.11	14.21	13.21	14.70	14.49	14.00	13.21	16.69	0.820			
Sex (M-F)	T0	5-8				5-8							
Tanner stage	T0	3.7				3.5							
<b><i>Anthropometry</i></b>													
BMI (kg.m2)	T0	34.01	33.80	31.30	36.50	33.47	32.70	31.20	35.00	0.765	<0.001	<0.001	0.722
	T3	31.06	31.60	29.35	32.90	30.69	30.10	29.30	32.40				
BMI Z-score	T0	4.10	3.98	3.36	4.69	4.00	4.01	3.45	4.55	0.876	<0.001	<0.001	0.619
	T3	3.69	3.68	3.04	4.27	3.55	3.52	3.26	3.84				
Fat mass (%)	T0	42.00	41.90	40.35	43.60	40.72	41.10	36.80	43.50	0.522	<0.001	<0.001	0.638
	T3	37.5	38.3	35.3	39.4	36.67	36.00	33.50	40.80				
Abdominal fat mass (kg)	T0	8.33	8.41	8.04	8.90	7.96	7.86	6.26	9.09	0.531	<0.001	<0.001	0.765
	T3	6.97	6.82	6.63	7.45	6.53	7.05	5.28	7.65				
Lean mass (kg)	T0	54.61	52.68	51.29	59.62	51.90	50.40	44.03	57.73	0.303	0.218	0.399	0.331
	T3	54.22	52.15	50.10	59.30	51.49	50.62	45.50	58.02				
<b><i>VD and associated factors</i></b>													
25(OH)D (nmol/L)	T0	48.27	44.00	38.00	56.00	41.33	34.50	32.00	50.50	0.183	<0.001	<0.001	0.023
	T3	74.73	70.00	63.50	83.50	56.54	56.00	46.00	68.00				
PTH (mmol/L)	T0	44.82	44.00	34.50	55.50	33.42	29.50	26.75	36.25	0.021	<0.001	<0.001	0.145
	T3	39.45	37.00	34.00	41.50	32.92	28.00	27.00	38.00				
Calcium (mmol/L)	T0	2.30	2.29	2.27	2.34	2.28	2.26	2.22	2.35	0.502	0.990	0.990	0.853
	T3	2.32	2.32	2.27	2.38	2.31	2.33	2.28	2.33				
<b><i>Cardiometabolic factors</i></b>													
SBP (mmHg)	T0	115.50	119.00	106.50	123.00	113.80	113.00	106.00	120.00	0.540	0.104	0.099	0.161

DBP (mmHg)	T3	116.80	117.00	109.00	122.50	109.80	111.00	105.00	114.00				
	T0	59.30	59.00	57.00	60.00	63.38	61.00	59.00	67.00	<b>0.050</b>	<b>0.040</b>	<b>0.030</b>	0.062
MBP (mmHg)	T3	57.56	57.00	56.00	58.00	60.31	61.00	58.00	63.00				
	T0	74.43	76.70	72.65	81.15	80.17	78.70	76.00	84.30	0.246	<b>0.030</b>	<b>0.030</b>	0.366
Resting HR (bpm)	T3	76.14	74.70	73.70	78.00	76.82	77.70	75.00	79.00				
	T0	67.00	68.00	64.00	73.00	66.08	63.00	57.00	72.00	0.484	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.167
Maximal HR (bpm)	T3	59.14	56.00	54.50	64.00	52.67	50.00	45.75	55.75				
	T0	196.10	194.50	191.50	203.00	196.50	198.00	190.00	206.00	0.939	0.674	0.467	0.098
Glycemia (mmol/L)	T3	192.70	198.00	182.00	202.00	201.40	202.00	198.00	206.50				
	T0	4.77	4.80	4.40	5.20	4.47	4.50	4.00	4.90	0.121	0.175	0.210	0.396
Insulinemia (mUI/L)	T3	4.67	4.80	4.60	4.90	4.56	4.60	4.40	4.90				
	T0	174.70	172.60	141.10	190.10	99.09	92.55	83.60	116.80	<b>0.003</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.010</b>
HOMA-IR	T3	103.60	108.50	82.45	119.60	73.85	66.30	50.40	89.40				
	T0	6.26	6.20	4.90	7.10	3.35	3.35	2.80	3.95	<b>0.002</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.006</b>
Triglycerides (g/L)	T3	3.57	3.40	3.05	4.20	2.55	2.20	1.80	3.10				
	T0	1.02	0.91	0.66	1.14	0.85	0.80	0.59	0.94	0.521	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.966
Cholesterol total	T3	0.68	0.54	0.44	0.90	0.62	0.62	0.46	0.76				
	T0	1.65	1.62	1.56	1.84	1.64	1.56	1.40	1.89	0.679	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.467
HDL-C (g/L)	T3	1.36	1.34	1.28	1.46	1.35	1.25	1.21	1.46				
	T0	0.40	0.40	0.34	0.42	0.47	0.46	0.39	0.51	0.102	0.201	0.115	0.432
LDL- C (g/L)	T3	0.41	0.43	0.37	0.46	0.44	0.47	0.33	0.51				
	T0	1.05	1.09	0.85	1.23	1.00	0.99	0.78	1.20	0.541	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.484
TG/HDL-C	T3	0.81	0.79	0.74	0.91	0.78	0.73	0.64	0.83				
	T0	2.82	2.28	1.56	3.22	2.00	1.83	1.16	2.54	0.331	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.910
<b>Inflammatory status</b>	T3	1.77	1.34	0.97	2.24	1.55	1.42	0.96	1.81				
	T0	9.40	7.91	5.26	13.13	5.86	4.37	2.74	9.61	0.173	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.046</b>
CRP (mg/mL)	T3	5.35	6.52	1.86	7.75	1.81	1.77	0.82	2.26				
	T0	1.43	1.37	1.19	1.69	1.21	1.24	1.00	1.32	0.264	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.173
TNF (pg/mL)	T3	1.19	1.18	1.16	1.35	1.03	1.02	0.91	1.14				
	T0	3.03	2.69	2.51	2.89	2.20	2.33	1.67	2.72	0.219	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.086
IL-6 (pg/mL)	T3	1.94	1.78	1.64	2.26	1.39	1.23	0.92	1.67				

Leptin (ng/mL)	T0	34.61	31.98	21.32	44.02	27.32	23.08	17.64	30.78	0.260	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.487
	T3	18.77	15.16	8.75	32.13	14.24	12.78	8.11	22.20				
<b>Physical performance</b>													
Number of 20 m	T0	34.30	30.00	25.25	43.50	37.69	36.00	27.00	46.00	0.820	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.616
	T3	49.50	49.00	36.50	56.00	53.36	57.00	37.50	59.50				

BMI, body mass index based; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure; HR, heart rate; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance index; HbA1c, glycated hemoglobin; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; CRP, C-reactive protein; TNF, *tumor necrosis factor*; IL-6, interleukin 6. Significant p-values are written in bold

**Table 3** : Correlations between the changes in 25(OH)D, PTH, PTH/25(OH)D and the changes in anthropometric, cardiometabolic, inflammatory, physical activity parameters (significant correlations in bold; NS: non significant) in 18 obese adolescents displaying deficiency in VD (9 OS and 9 ONS).

	BMI (kg.m <sup>2</sup> )		BMI Z-score		Fat mass (%)		Abdominal fat mass (kg)		Lean mass (kg)		Calcium		SBP (mmHg)		DBP (mmHg)		MBP (mmHg)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
$\Delta$ 25(OH)D																		
All	-0.13	NS	0.35	NS	-0.41	NS	0.21	NS	0.13	NS	-0.39	NS	0.33	NS	0.17	NS	0.21	NS
OS	-0.56	NS	0.5	NS	-0.67	0.1	-0.16	NS	-0.11	NS	-0.52	NS	0.71	0.07	0.75	<b>0.05</b>	0.83	<b>0.02</b>
ONS	0.15	NS	0.18	NS	-0.10	NS	0.33	NS	0.39	NS	-0.48	NS	0.08	NS	-0.22	NS	0.05	NS
$\Delta$ PTH																		
All	0.15	NS	-0.3	NS	0.43	0.1	0.03	NS	-0.11	NS	0.23	NS	-0.22	NS	-0.2	NS	-0.21	NS
OS	0.07	NS	-0.41	NS	0.11	NS	-0.18	NS	0	NS	0.18	NS	-0.43	NS	-0.86	<b>0.01</b>	-0.89	<b>0.01</b>
ONS	0.26	NS	-0.03	NS	0.6	<b>0.09</b>	0.35	NS	-0.28	NS	0.26	NS	0.1	NS	0.63	0.07	0.26	NS
$\Delta$ PTH/25(OH)D																		
All	-0.05	NS	-0.51	<b>0.04</b>	0.36	NS	-0.11	NS	-0.33	NS	0.32	NS	-0.53	<b>0.03</b>	-0.36	NS	-0.44	0.09
OS	0.43	NS	-0.37	NS	0.46	NS	0.14	NS	0.04	NS	0.39	NS	-0.67	0.1	-0.85	<b>0.02</b>	-0.89	<b>0.01</b>
ONS	-0.29	NS	-0.45	NS	0.23	NS	-0.08	NS	-0.52	NS	0.27	NS	-0.28	NS	0.13	NS	-0.27	NS

	Resting HR (bpm)		Maximal HR (bpm)		Glycemia (mmol/L)		Insulinemia (mIU/L)		HOMA-IR		Triglycerides (g/L)		Cholesterol total		HDL-C (g/L)		LDL-C (g/L)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
$\Delta$ 25(OH)D																		
All	0.14	NS	-0.57	<b>0.04</b>	0.28	NS	-0.06	NS	-0.03	NS	-0.39	NS	0.48	0.06	0.46	0.07	0.37	NS
OS	-0.05	NS	-0.54	NS	0.31	NS	0.23	NS	0.11	NS	-0.4	NS	0.48	NS	0.7	0.08	0.27	NS
ONS	0.2	NS	-0.67	0.1	0.59	0.1	0.14	NS	0.25	NS	-0.22	NS	0.41	NS	0.21	NS	0.5	NS
$\Delta$ PTH																		
All	0.11	NS	0.31	NS	-0.43	0.1	-0.27	NS	-0.31	NS	0.26	NS	-0.31	NS	-0.12	NS	-0.41	NS
OS	0.7	NS	0.09	NS	-0.39	NS	-0.46	NS	-0.32	NS	-0.02	NS	-0.49	NS	-0.29	NS	-0.54	NS
ONS	-0.15	NS	0.58	NS	-0.8	<b>0.01</b>	-0.53	NS	-0.74	<b>0.02</b>	0.35	NS	-0.14	NS	0.22	NS	-0.37	NS
$\Delta$ PTH/25(OH)D																		
All	0.13	NS	0.52	0.07	-0.5	<b>0.05</b>	-0.06	NS	-0.13	NS	0.1	NS	-0.72	<b>0</b>	-0.45	0.08	-0.62	<b>0.01</b>
OS	0.6	NS	0.54	NS	-0.5	NS	-0.36	NS	-0.29	NS	0.34	NS	-0.65	NS	-0.57	NS	-0.5	NS
ONS	-0.03	NS	0.41	NS	-0.83	<b>0.01</b>	-0.4	NS	-0.55	NS	-0.21	NS	-0.6	<b>0.09</b>	-0.18	NS	-0.73	<b>0.02</b>

### **3.3 Etude 2 - article 2**

*Article soumis à Annals Nutrition and Metabolism (in review)*

## **Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on carotid intima-media thickness and compliance in obese adolescents.**

Christopher Morrissey, Antonia Pérez-Martin, Aurélie Goncalvez, Cécile Raverdy, Delphine Masson, Catherine Tardivel, Sandrine Gayraud, Myriam Carrere, Marie Josèphe Amiot, Vinet

Agnès\*.

\* corresponding author

## **Contexte- hypothèse Principaux résultats**

L'obésité infantile est associée à une concentration plus faible en vitamine D (VD) (Alemzadeh et al, 2008; Ganji et al, 2011), à une augmentation de l'épaisseur intima-média (EIM) et à une plus grande rigidité artérielle, marqueur précoce et reconnu de l'athérosclérose (Cote et autres). 2013, 2015). L'insuffisance en VD est associée à une rigidité artérielle accrue chez les adultes en bonne santé ou en surpoids (Al Mheid et al, 2011; Mayer et al, 2012) et chez les adolescentes en bonne santé (Ashraf et al, 2014). Par ailleurs, deux méta-analyses récentes chez l'adulte ont conclu que la supplémentation en VD semble à elle seule insuffisante pour améliorer les indicateurs de rigidité artérielle (Rodriguez et al, 2016; Upala et al, 2016), tandis qu'un essai clinique randomisé mené auprès d'adolescents obèses afro-américains a révélé que la supplémentation en VD améliore favorablement les indices de rigidité artérielle (Dong et al, 2010). En revanche, la perte de poids améliore la compliance artérielle (Petersen et al, 2016), elle entraîne une diminution des valeurs d'EIM chez l'adulte (Skilton et al, 2017) et augmente la concentration en VD chez l'adulte (Pannu et al, 2016) comme chez l'enfant (Reinher et al, 2009; Ho et al, 2014). Nous avons donc émis l'hypothèse qu'une supplémentation en VD associée à une perte de poids induite par une prise en charge globale, incluant un entraînement de type aérobie HIIT et un régime alimentaire chez les adolescents obèses (OA), pourrait améliorer davantage la compliance artérielle et réduire davantage l'EIM par rapport à une prise en charge traditionnelle.

**À l'inclusion**, tous les OA quel que soit le groupe présentaient des taux significativement plus élevés de CRP et d'IL-6 et une concentration de 25OHD inférieure à celle des adolescents sains normo-pondérés. 73% (18/26) des AO présentaient une insuffisance en VD (taux de 25 (OH) D <50 nmol / L), comparativement à seulement 22% (5/23) des participants normo-pondérés

de même âge. Le diamètre carotidien et l'EIMc étaient significativement plus élevés chez les AO comparés aux adolescents témoins normo-pondérés. En revanche, la compliance artérielle carotidienne (CCA) était plus faible dans le groupe des AO.. La concentration de 25(OH)D n'était corrélée ni avec les données vasculaires ni avec aucun marqueur inflammatoire.

**Après trois mois d'intervention**, l'IMC, la CRP et l'IL-6 ont diminué et le 25(OH)D a augmenté chez les AO supplémentés et non supplémentés sans différence entre les groupes. Tous les OA supplémentés et 8/13 (soit 60%) des OA non supplémentés ont atteint le niveau de suffisance en VD. Les OA ont présenté une diminution significative de l'EIMc, tandis que la compliance artérielle carotidienne a augmenté sans différence entre les deux groupes de OA. Les changements au niveau des variations des paramètres mesurés n'étaient pas différents entre les OA supplémentés en comparaison des OA non supplémentés. Chez tous les AO, Les delta 25OHD (%) étaient seulement corrélées négativement (tendance) avec les delta de l'EIMc (%) ( $r = -0.43$ ,  $p = 0.06$ ). En prenant en compte les seuls AO déficients en VD à l'inclusion, cette corrélation devenait significative ( $r=-0.59$ ,  $p =0.03$ ).

**Annals of Nutrition and Metabolism**

<b>Manuscript:</b>	ANM-0-0-0
<b>Title:</b>	Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on carotid intima-media thickness and compliance in obese adolescents.
<b>Authors(s):</b>	Christopher MORRISSEY (Co-author), Aurélie GONCALVES (Co-author), Antonia PEREZ-MARTIN (Co-author), Cécile RAVERDY (Co-author), Delphine MASSON (Co-author), Catherine TARDIVEL (Co-author), Sandrine GAYRARD (Co-author), Myriam CARRERE (Co-author), Marie-Jo AMIOT (Co-author), Agnès VINET (Corresponding Author)
<b>Keywords:</b>	obesity, vascular compliance, Vitamins
<b>Type:</b>	Original Paper

**Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on carotid intima-media thickness and compliance in obese adolescents.**

Short title: Vitamin D and vascular health in obese adolescents

Morrissey C<sup>1</sup>, Perez-Martin A<sup>2</sup>, Goncalves A<sup>3</sup>, Raverdy C<sup>4</sup>, Masson D<sup>4</sup>, Tardivel C<sup>5</sup>, Gayrard S<sup>1</sup>, Carrère M<sup>6</sup>, Amiot MJ<sup>6</sup>, Vinet A<sup>1</sup>.

1 Avignon University, LAPEC EA4278, Avignon, France

2 Vascular Medicine Laboratory, Nimes University Hospital, Univ Montpellier, Nimes, France

3 Chrome Unit, EA 7352, University of Nîmes, Nîmes, France

4 SSR Institut Saint Pierre, Palavas-les-Flots, France

5 Aix Marseille Univ, INSERM, INRA, C2VN, Marseille, France

6 Univ Montpellier, CIRAD, CIHEAM-IAMM, INRA, Montpellier SupAgro, MOISA, Montpellier, France

Corresponding author

Agnès VINET

Avignon University, LAPEC EA4278

74 rue Louis Pasteur

84000 AVIGNON, France

Tel: +334 90 16 29 30

Fax: + 334 90 16 29 01

Email: [agnes.vinet@univ-avignon.fr](mailto:agnes.vinet@univ-avignon.fr)

Key words: childhood obesity / vitamin D / arterial stiffness / intima-media thickness

## 1. Abstract

**Background:** Childhood obesity is associated with low concentration of vitamin D (VD) and arterial stiffness. **Objective:** to examine the effects of cholecalciferol supplementation during a weight-loss program on carotid artery intima-media thickness (IMT) and compliance in obese adolescents (OA). **Methods:** Twenty-six OA and eighteen normal-weight adolescents were enrolled. The OA were randomized into two arms, (1) supplemented with VD (n=13) and (2) no-supplemented (n=13). Serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], IMT and carotid compliance were measured at inclusion and after 3-month intervention. Delta changes of the parameters were compared between the two groups. **Results:** Insufficiency in 25(OH)D concentration was found in 73% of OA and in 22% in normal-weight adolescents. OA displayed higher IMT but lower carotid compliance than controls. After three months, 25(OH)D increased but was not significantly different between the both groups, supplemented or not. The changes of IMT and carotid compliance were not significantly different between the two groups. However, the changes of IMT was negatively correlated with the changes of 25(OH)D in OA displaying VD insufficiency at baseline ( $r=-0.59$ ,  $p =0.03$ ). **Conclusions:** Cholecalciferol supplementation during weight loss did not improve the beneficial effects of weight loss on carotid compliance but enhanced IMT reduction in OA with VD insufficiency.

## **2. Introduction**

Childhood obesity is associated with lower concentration of vitamin D (VD) [1, 2] and with increased intima-media thickness (IMT) and greater arterial stiffness, two early markers of atherosclerosis [3]. VD insufficiency is associated with increased arterial stiffness in healthy or overweight adults [4, 5] and in healthy adolescent females [6]. However, two recent meta-analysis concluded that VD supplementation alone did not improve arterial stiffness in adults [7, 8]. Whereas in obese adolescents, VD supplementation decreased arterial stiffness [9]. In contrast, weight loss improved arterial compliance [10], reduced IMT in adults [11] and increased VD concentration both in adults [12] and in children [13, 14]. Whether VD supplementation may have a synergistic influence on weight-loss program-induced improvements in arterial compliance remains unexplored. Thus, we hypothesized that VD supplementation associated with a lifestyle program mediated-weight loss including aerobic training and diet in obese adolescents (OA) may further improve arterial compliance and reduce IMT when compared to the lifestyle change program alone.

## **3. Materials and Methods**

### *Study Population*

To avoid seasonal variations, all adolescents were considered for inclusion during March-April 2015 and March-April 2016. Twenty-six OA, 12 to 17 years old, were enrolled in a paediatric weight management clinic in the south of France and 18 puberty-matched normal-weight controls (NW) were volunteers (case-control study). Written, informed consent was obtained from all adolescents and their parents. The study protocol was conducted in accordance with

the declaration of Helsinki (ethic committee 2015-000060-34). VIDADO study was registered in the ClinicalTrials.gov database NCT02400151.

BMI z-scores were calculated. Values greater than 3 defined severe obesity. OA were randomized by blocks of random size (2 or 4), with a 1:1 ratio into two groups, receiving every morning a fruit juice, without (ONS; n=13) or with (OS; n=13) VD supplementation (4000 IU/d of VD<sub>3</sub> UVEDOSE 100000 IU/2 mL, Crinex laboratory, France) [15]. All OA followed a three-month weight-loss program. Two adolescents in the OS group left the clinic before the end of the program for personal reason (at 3 months, OS=11). Daily throughout the clinic program, the OA received both standard and personalized balanced meals prescribed by dieticians based on a balanced distribution of macronutriments carbohydrates (55%), proteins (15%), and lipids (30% total, with less than 10% saturated fat). Their total daily food intake was calculated to enable them to reach a negative balance of 500 kcal/day. During the 3 months, aerobic training consisted of 180 min/week of supervised moderate-to-vigorous intensity exercise. Each session mostly involved aerobic exercise, including training circuit, boxing, basket-ball and Nordic walk with alternating short periods of high-intensity exercise interspersed among period of lower intensity, as previously published [16].

At baseline and after 3 months, 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and some inflammatory markers (CRP, IL-6) were measured in venous blood samples after overnight fasting. All vascular measurements were performed after overnight fasting in a quiet room with a controlled temperature between 22 and 24°C using high-resolution vascular ultrasonography (MyLab30, Esaote SpA, Firenze, Italy), performed by the same observer (AV) blinded to group allocation. For the examination of common carotid artery, the transducer was placed 2-3 cm proximal to the carotid bifurcation on the right side of the neck without compromising the internal jugular vein. Diastolic and systolic diameters were defined by the distance from the leading edge of the

intima-lumen interface of the near wall and the lumen-intima interface of the far wall. The carotid IMT (mm), defined as the distance from the leading edge of the lumen-intima interface to the leading edge of the media-adventitia interface of the far wall, was measured and averaged automatically by the analysis software according to the Mannheim consensus. Carotid artery compliance ( $\text{mm}^2 \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ) was calculated as  $\text{CAC} = \pi(D_s^2 - D_d^2) / 4PP$  where  $D_s$  and  $D_d$  are systolic and diastolic arterial diameters, respectively, and PP is pulse pressure, measured on the left arm by an automated system (Dynamap, GE Medical Systems, Milwaukee, USA). Within-subject variation in our laboratory was 1.8% for arterial diameters [17].

#### *Statistical method*

The statistical analysis, such as statistical tests and box-plots, were performed with R software. Due to the small sample size ( $<30$ ), we performed non-parametric statistical tests involving median comparisons. At first, we run Mann-Whitney Tests between OA and NW to check the baseline. We also compared OS and ONS with Mann-and-Whitney tests. Then we computed Wilcoxon Signed-Rank tests to compare the effect of the program in all obese. Finally, Spearman correlations were used to explore relationships between 25(OH)D and vascular outcomes.

## **Results**

The main clinical subject characteristics are shown in Table 1.

At inclusion, OA, whatever the group, had significant lower 25(OH)D concentration and higher CRP and IL-6 levels than NW. VD insufficiency (defined by 25(OH)D levels  $< 50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$

[18]) was detected in 73% (18/26) of OA and in only 27% (5/18) NW. CCA diameter and CCA-IMT were higher and CCA compliance was lower in the OA group than the NW one (Table 2). Concentration in 25(OH)D was not correlated with any CCA data and any inflammatory marker.

No adverse effect occurred during the program. After the 3-month interventional program, BMI, CRP and IL-6 decreased and 25(OH)D increased in OS and ONS without any difference between the both groups. All OS and only 60% ONS (8/13) reached a sufficient status in VD. OA had significant CCA-IMT reduction, while CCA compliance increased, without any difference between the both groups (Table 2). Delta change of each parameter did not differ between OS and ONS. Delta serum 25(OH)D concentrations (%) was neither correlated with delta CCA compliance nor delta inflammatory markers. Delta serum 25(OH)D concentrations (%) was only negatively correlated (at borderline) with delta IMT (%) ( $r=-0.43$ ,  $p=0.06$ ). However, when we took into account only OA with a VD insufficiency at baseline ( $<50\text{nmol/L}$ ) (i.e intention to treat), the correlation between delta 25(OH)D and delta IMT became significant ( $r=-0.59$ ,  $p=0.03$ ).

## **Discussion**

The main finding of this double-blind randomized controlled trial was that improved 25(OH)D level was correlated with IMT reduction during a weight loss program in VD-insufficient obese adolescents. As IMT is a well-established surrogate marker of atherosclerosis and is predictive of cardiovascular morbidity and mortality in adults [11], this result may add new evidence for a vasculoprotective function of VD and consequently may be an important paediatric health

standpoint. Nevertheless, VD supplementation combined with diet and aerobic training did not enhance CCA compliance improvement in OA.

At baseline, in accordance with previous studies, 73% of OA had VD insufficiency [2]. The exact reasons for low 25(OH)D in OA are not clear. Plausible explanations include limited skin exposure to UV B radiation because of more cover-up and/or less outdoor activities, impaired ability of skin to convert 7-dehydrocholesterol to VD<sub>3</sub>, and the sequestration of VD in adipose tissue and its volumetric dilution [19]. Whereas VD insufficiency is associated with increased arterial stiffness in adults [4, 5], we did not observe any relationships between 25(OH)D with arterial stiffness and IMT in OA. This result is not universal in obese children [6, 20, 21]. Beyond obesity, low 25(OH)D levels in childhood was associated with high-risk carotid IMT in adulthood [22]. Thus, as VD insufficiency, higher IMT and lower CCA compliance coexisted in the OA, our combined program (diet, exercise plus VD supplementation) may represent a relevant window of time to reverse these alterations.

The weight-loss program improved 25(OH)D levels in OA whatever the group, OS and ONS- presumably due to hemodilution and to sun exposure. In fact, we observed an increase in serum 25(OH)D in normal weight adolescents during the same period (+20%, data not shown). Accordingly, Tzotzas *et al* [23] reported that a 10% reduction in weight resulted in 34% increased VD concentration in previously VD-insufficient obese individuals. In the present study, the OA whatever the group lost 8% of weight, which could translate into an increased in VD concentration of 27%. Although ONS was able to increase 25(OH)D levels significantly (+35%), the VD status remained at the level of insufficiency in 38% ONS. In contrast,

supplementation at 4000 IU/d for 3 months during a weight-loss program was effective to reach adequate 25(OH)D levels. The weight-loss program appeared to counterbalance the progression of CCA compliance with no additional effect of VD supplementation. Note that VD supplementation combined with the weight-loss program had no undesirable effect on CCA compliance. This result is in agreement with the conclusions of two recent meta-analysis [7, 8] on the effect of VD supplementation on arterial stiffness. Our result thus added new knowledge that VD supplementation combined with a weight-loss program had no enhanced or synergistic effect on carotid compliance. However, the weight-loss program resulted in a significant reduction in IMT whatever the OA group with the greatest IMT reduction obtained in those OA who had VD insufficiency at baseline and who improved more 25(OH)D. This may suggest a vasoprotective VD effect. Considering the role of inflammation in atherosclerosis [23], we might speculate that lowering CRP and IL-6 by VD combined with weight reduction might have beneficial anti-atherogenic effects. However, the lack of relationships between delta CRP or IL-6 changes and delta IMT weakens this hypothesis.

The present study has several limitations. First, the relatively small sample size restricts the possibility of extrapolation to a wider population. Second, it remains unclear which interventional factor caused the observed results as diet, exercise and VD supplementation may both have a positive separate or synergic effect on 25(OH)D levels and vascular profiles.

We conclude that the greater improvement in VD status by supplementation during a weight loss program is able to enhance IMT reduction, but not carotid compliance increase. From a paediatric health standpoint, such effective program to counteract vascular impairment in obese

adolescent must be encouraged especially in those with VD insufficiency. Further studies with more subjects and longer follow-up are required to confirm the vasoprotective effect of VD and to better understand the mechanisms underlying these effects.

## **6. Statements**

**Acknowledgment:** We express our sincere gratitude to Institut Saint Pierre which contributed to the study.

**Statement of ethics:** Written, informed consent was obtained from all adolescents and their parents. The study protocol was conducted in accordance with the declaration of Helsinki (ethic committee 2015-000060-34). VIDADO study was registered in the ClinicalTrials.gov database NCT02400151.

**Disclosure statement:** Authors have no conflicts of interest to disclose.

**Funding Source:** This study takes part from VIDADO (Vitamin D in obese adolescents) and was supported in part by the University Hospital of Nimes, France (grant LOCAL/2015).

## **7. References**

1. Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism* 2008;57(2):183-91.
2. Ganji V, Zhang X, Shaikh N, Tangpricha V. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with prevalence of metabolic syndrome and various cardiometabolic risk factors in US children and adolescents based on assay-adjusted serum 25-hydroxyvitamin D data from NHANES 2001-2006. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(1):225-33.
3. Cote AT, Phillips AA, Harris KC, Sandor GG, Panagiotopoulos C, Devlin AM. Obesity and arterial stiffness in children: systematic review and meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(4):1038-44.
4. Al Mheid I, Patel R, Murrow J, Morris A, Rahman A, Fike L et al. Vitamin D status is associated with arterial stiffness and vascular dysfunction in healthy humans. *J Am Coll Cardiol.* 2011;8(2):186-92.
5. Mayer O Jr, Filipovský J, Seidlerová J, Vaněk J, Dolejšová M, Vrzalová J et al. The association between low 25-hydroxyvitamin D and increased aortic stiffness. *J Hum Hypertens.* 2012;26(11): 650-5.
6. Ashraf AP, Alvarez JA, Dudenbostel T, Calhoun D, Griffin R, Wang X et al. Associations between vascular health indices and serum total, free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in adolescents. *PLoS One* 2014;9(12): e114689.

7. Rodríguez AJ, Scott D, Srikanth V, Ebeling P. Effect of vitamin D supplementation on measures of arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Endocrinol.* 2016;84(5):645-57.
8. Upala S, Sanguankeo A, Congrete S, Jaruvongvanich V. Effect of cholecalciferol supplementation on arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *Scand Cardiovasc J.* 2016;50(4):230-35.
9. Dong Y, Stallmann-Jorgensen IS, Pollock NK, Harris RA, Keeton D, Huang Y et al. A 16-week randomized clinical trial of 2000 international units daily vitamin D3 supplementation in black youth: 25-hydroxyvitamin D, adiposity, and arterial stiffness. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(10):4584-91.
10. Petersen KS, Clifton PM, Lister N, Keogh JB. Effect of weight loss induced by energy restriction on measures of arterial compliance: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* 2016;247:7-20.
11. Skilton MR, Yeo SQ, Ne JY, Celermajer DS, Caterson ID, Lee CM. Weight loss and carotid intima-media thickness-a meta-analysis. *Obesity* 2017;25(2):357-62.
12. Pannu PK, Zhao Y, Soares MJ. Reductions in body weight and percent fat mass increase the vitamin D status of obese subjects: a systematic review and metaregression analysis. *Nutr Res.* 2016;36(3):201-13.
13. Reinehr T, de Sousa G, Alexy U, Kersting M, Andler W. Vitamin D status and parathyroid hormone in obese children before and after weight loss. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(2):225-32.
14. Ho M, Gow M, Baur LA, Benitez-Aguirre PZ, Tam CS, Donaghue KC et al. Effect of fat loss on arterial elasticity in obese adolescents with clinical insulin resistance: RESIST study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):1846-53.

15. Belenchia AM, Tosh A, Hillman L, Peterson C. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2013 Apr;97(4):774-81.
16. Morrissey C, Montero D, Raverdy C, Masson D, Amiot MJ, Vinet A. Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents. *Int J Sports Med.* 2018 Jun;39(6):450-55.
17. Walther G, Nottin S, Dauzat M, Obert P. Femoral and axillary ultrasound blood flow during exercise: a methodological study. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38:1353-61.
18. Vidailhet M, Mallet E, Bocquet A, Bresson JL, Briend A, Chouraqui JP, et al. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the committee on nutrition of the French Society of Paediatrics. *Arch Pediatr.* 2012;19(3):316–28.
19. Pourshahidi LK. Vitamin D and obesity: current perspectives and future directions. *Proc Nutr Soc.* 2015;74(2):115-24.
20. Pacifico L, Anania C, Osborn JF, Ferraro F, Bonci E, Olivero E et al. Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(4):603-11.
21. Singh J, Merrill ED, Sandesara PB, Schoeneberg L, Dai H, Raghuvveer G. Vitamin D, Low-Grade Inflammation and Cardiovascular Risk in Young Children: A Pilot Study. *Pediatr Cardiol.* 2015;36(7):1338-43.
22. Juonala M, Voipio A, Pahkala K, Viikari JS, Mikkilä V, Kähönen M et al. Childhood 25-OH vitamin D levels and carotid intima-media thickness in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1469-76.

23. Tzotzas T, Papadopoulou FG, Tziomalos K, Karras S, Gastaris K, Perros P et al. Rising serum 25-hydroxy-vitamin D levels after weight loss in obese women correlate with improvement in insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4251-7.
24. Järvisalo MJ, Harmoinen A, Hakanen M, Paakkunainen U, Viikari J, Hartiala J et al. Elevated serum C-reactive protein levels and early arterial changes in healthy children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(8):1323-28.

**Table 1.** Baseline characteristics of the study groups.

Characteristics	All obese (n=26)	OA subgroups		P value OS vs ONS	Normal-weight (n=18)	P value All obese vs NW
		OS (n=13)	ONS (n=13)			
Age-yr	14.2 (13.6-14.8)	14.6 (13.6-14.8)	14 (13.1-16.7)	.959	14.8 (13.3-15.3)	.535
Sex (M-F)	10-16	5-8	5-8	1.0	10-13	.728
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.5 (31.2-36.2)	33.8 (31.3-36.5)	32.7 (31.1-36.3)	0.614	19.2 (18.5-20.2)	<.0001
BMI Z-score	4.0 (3.5-4.5)	3.9 (3.4-4.7)	4.0 (3.4-4.6)	0.959	0.0 (-0.3-0.7)	<.0001
Fat mass (%)	41.4 (39.8-43.2)	41.9 (39.8-43.6)	41.1 (36.5-44.3)	0.555	23.2 (18.4-27.7)	<.0001
SBP (mmHg)	112 (106-120)	112 (106-123)	113 (106-120.5)	0.797	104 (100-108)	<.001
DBP (mmHg)	66 (62-68)	59 (57-60)	61 (59-68)	0.039	60 (59-62)	.004
25(OH)D (nmol/L)	38 (35.4-47.8)	39 (38-55.8)	34.5 (32-58.6)	0.191	57 (48.1-67.7)	<b>0.002</b>
n deficiency in 25(OH)D < 37.5 nmol/L	8	1	7	-	0	-
n insufficiency in 25(OH)D < 50 nmol/L	18	9	9	-	5	-
CRP (mg/mL)	6.1 (3.3-10.1)	7.9 (3.6-13.7)	4.4 (2.3-10.1)	0.331	0.3 (0.2-0.7)	<.0001
IL-6 (pg/mL)	2.6 (1.7-2.7)	2.7 (1.8-2.9)	2.3 (1.6-2.7)	0.283	0.55 (0.5-1.1)	<.0001
Carotid mean diameter (mm)	5.73 (5.59-5.81)	5.77 (5.53-5.87)	5.70 (5.31-5.82)	0.355	5.05 (4.84-5.24)	<.0001
Carotid compliance (mm <sup>2</sup> /mmHg)	0.11 (0.09-0.12)	0.10 (0.06-0.16)	0.11 (0.08-0.12)	0.923	0.16 (0.12-0.18)	0.0017
Intima-media thickness (mm)	0.64 (0.63-0.67)	0.63 (0.62-0.66)	0.66 (0.62-0.68)	0.342	0.61 (0.59-0.63)	0.0186

Median (95%CI)s; BMI: Body Mass Index; SBP and DBP: systolic and diastolic blood pressure; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D CRP: high sensitive C-Reactive Protein; IL-6: interleukin-6.

**Table 2.** Three-month changes in biological and vascular outcomes

Outcome variables	All obese		p value	Changes from baseline (in %)		p value
	Baseline	3-months		OS	ONS	
25(OH)D (nmol/L)	38 (35.4-47.8)	67 (57-71.6)	<0.0001	55.2 (38.1-72.0)	34.9 (8.1-70.9)	0.132
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.5 (31.2-36.2)	30.3 (29.6-32.5)	<0.0001	-8.5 (-11.2-(-6.3))	-7.8 (-10.9-(-5.6))	0.649
CRP (mg/mL)	6.1 (3.3-10.1)	2.0 (0.9-4.5)	0.0002	-48.8 (-81.6-(-0.35))	-65 (-81.1-48)	0.331
IL-6 (pg/mL)	2.6 (1.7-2.7)	1.6 (1.1-1.9)	0.007	-36.9 (-76.9-1.7)	-36.3 (-60.3(-12.8))	1
Carotid diameters (mm)	5.73 (5.59-5.81)	5.66 (5.46-5.83)	0.678	0 (-1.1-2.5)	-1.5 (-4.42-3.5)	0.434
Carotid compliance (mm <sup>2</sup> /mmHg)	0.11 (0.09-0.12)	0.12 (0.10-0.15)	0.05	2.35 (-9.8-18.2)	15.5 (-5.3-58.1)	0.305
Intima-media thickness (mm)	0.64 (0.63-0.67)	0.63 (0.62-0.67)	0.034	-3.25 (-7.3-0.9)	0.61 (-6.4-2.1)	0.599

Median (95%CI); BMI: Body Mass Index; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; CRP: high sensitive C-Reactive Protein; IL-6: interleukin-6.

### **3.4 Etude 2 - article 3**

*Manuscrit en cours de finalisation d'écriture*

**Effect of vitamin D supplementation during weight  
loss program on micro- and macrocirculation in  
obese adolescents: a double-blind randomized trial  
VIDADO.**

Christopher Morrissey, Antonia Perez-Martin, Cécile Raverdy, Delphine Masson, Marie

Josèphe Amiot, Agnès Vinet.

## Contexte- Hypothèse et Principaux Résultats

Avec une prévalence croissante, l'obésité pédiatrique est un problème de santé publique majeur (Tirosh et al., 2011) car elle est associée à des risques considérables pour la santé présente et future de l'enfant, notamment la santé vasculaire (Must 1992). Notamment, l'obésité chez les enfants est généralement associée à des signes précoces de dysfonctionnement vasculaire (endothéliaux et/ou muscles lisses) aux niveaux macrovasculaire (Karpoff 2008; Montero 2014; Aggoun 2008; Zocalo 2017) et microvasculaire (Schlager 2011, Bhattacharje 2010, Kallerman 2014). Une identification à un stade précoce de ces dysfonctions vasculaires est donc justifiée pour atténuer les complications à long terme.

L'obésité chez les enfants est également associée à une concentration plus faible en VD (Rajakumar 2008; Alemzadeh 2008; Turer 2013) Or la VD pourrait exercer des effets protecteurs sur la fonction vasculaire 1) par des effets directs, comme en témoigne la présence du récepteur de la VD (VDR) et de la 1- $\alpha$  hydroxylase dans les cellules endothéliales vasculaires et les cellules musculaires (Molinari 2011) qui transforme la VD en substance hormonale 1,25-OH VD, et la diminution de l'activité de l'oxyde nitrique synthase et de la production de NO observées dans les études expérimentales avec des modèles dépourvus de VDR endothélial (Ni 2014) ; mais aussi 2) par le biais d'effets indirects tels que la modulation du stress oxydatif et des réponses inflammatoires, tant au niveau systémique qu'au niveau endothélial (Schulz et al., 2014).

Cependant, certaines études observationnelles se sont intéressées à l'association de la VD avec la dysfonction vasculaire chez les enfants obèses, et ont rapporté des résultats contrastés (Codoner 2012; Pacifico 2011; Javed 2015). Les essais cliniques randomisés ayant ciblé les effets vasculaires de la supplémentation en VD chez l'adulte n'ont pas été concluants (Beveridge 2018; Mzidi 2017; Hussin, 2016). A notre connaissance, seul Javed et (2016) ont

démontré qu'un traitement basé sur la supplémentation en VD n'impactait pas la fonction endothéliale chez les enfants obèses.

A l'inverse, un programme adapté de perte de poids permet généralement d'améliorer la fonction endothéliale chez les enfants obèses (Montero 2012).

La question de savoir si la supplémentation en VD peut avoir une influence synergique sur les améliorations induites par les programmes de perte de poids au niveau de la fonction macro et microvasculaire est de grand intérêt.

Ainsi, le but de ce 3<sup>ème</sup> papier a été de déterminer si une supplémentation en VD associée à une perte de poids induite par une prise en charge globale, incluant un entraînement à dominante aérobie type HIIT associé à un régime chez les adolescents obèses (OA), pouvait améliorer les effets macro- et micro-vasculaires de manière plus importante comparé à une prise en charge globale seule.

**A l'inclusion :** Les OA présentaient des taux significativement plus élevés de CRP et d'IL-6 et une concentration de 25OHD inférieure à celle des adolescents sains normo-pondérés. Les résultats de la macrocirculation ont montré une préservation de la fonction endothéliale et de la fonction musculaire lisse chez les adolescents obèses. En effet, les valeurs de vasodilatation flux-dépendante (FMD) des OA étaient inférieures à celles des adolescents normopondérés. Néanmoins, quand les valeurs de FMD étaient indexées aux vitesses de cisaillement ( $\Delta$  shear rate), il ne subsistait plus de différence entre les groupes OA vs normopondérés (Table 2). Au niveau de la microcirculation : les AO présentaient des valeurs d'augmentation de la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh et de SNP plus faibles que celles des adolescents témoins. Les OS et ONS n'ont pas montré de différence au niveau des paramètres macro- et microcirculatoire avant l'intervention. La concentration en 25(OH)D

n'était pas corrélée avec les marqueurs vasculaires malgré une tendance observée avec le paramètre d'augmentation de la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh ( $r=0.26$ ,  $p=0.09$ ).

**Après le programme interventionnel de trois mois** (i.e en Juin), les concentrations de 25(OH)D ont augmenté et les valeurs de IMC, HOMA-IR et CRP ont diminué dans les deux groupes d'adolescents obèses (OS et ONS). La correction de la déficience en VD a été atteinte chez tous les OS et chez 70% (9/13) des ONS. De manière intéressante, la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh et de SNP a pu être améliorée dans le seul groupe OS (Table 2). La variation (%) du statut en 25(OH)D était significativement corrélée avec la variation (%) de la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh ( $\Delta$  Ach CVC,  $r=0.49$ ,  $p=0.03$ ) et de SNP ( $\Delta$  SNP CVC,  $r=0.54$ ,  $p=0.02$ ) pour les deux groupes OS et ONS.  $\Delta$ SNP CVC a été significativement corrélé avec  $\Delta$  HOMA-IR ( $r=-0.53$ ,  $p=0.02$ ).

## INTRODUCTION

The prevalence of paediatric obesity is increasing and becomes a major public health issue (Tirosh et al., 2011) with considerable risk consequences, especially vascular health, not only in the child period but also at adult stage (Must et al., 1992). Childhood obesity is associated with early signs of vascular dysfunction (endothelial and/or smooth muscle) at both macrovascular (Karpoff et al., 2009b); (Montero et al., 2014b) (Aggoun et al., 2008b);(Zócalo et al., 2017b)) and microvascular levels (Schlager et al., 2011b);(Bhattacharjee et al., 2010b);(Hedvall Kallerman et al., 2014). Early identification of vascular dysfunctions is thus needed to mitigate long-term complications.

Obesity in children is also associated with lower concentration of vitamin D (VD) (Rajakumar et al., 2008);(Alemzadeh et al., 2008b); (Turer et al., 2013) as a result of larger VD sequestration and/or altered metabolism in adipose tissue, sunlight underexposure, and low consumption of VD rich food products (Pourshahidi 2015). VD might exert direct protective effects on vascular function, as evidenced by the presence of Vitamin D Receptor (VDR) and 1- $\alpha$  hydroxylase in vascular endothelial cells and smooth muscle cells (Molinari et al., 2011), and by experimental models lacking endothelial VDR which decreased nitric oxide synthase activity and NO production (Ni et al., 2014b). In addition, indirect effects may also be implicated, including a modulation, at systemic and endothelial levels, of oxidative stress and inflammatory responses (Dalan 2014).

However, observational studies evaluating the association of VD and vascular dysfunction in obese children are not concordant (Codoñer-Franch et al., 2011); (Pacífico et al., 2011b); (Javed et al., 2016). Randomized clinical trials examining the vascular effect of VD supplementation in adults have also been inconclusive so far (Mazidi et al., 2017)Beveridge 2018; Hussin 2016).

In obese children, to our knowledge, only Javed et (2016) reported lack of impact of VD treatment on endothelial function.

Weight-loss program usually improves endothelial function in obese children (Montero et al., 2012c). Whether VD supplementation may have a synergistic effect with weight-loss program on macro- and microvascular functions remains unexplored. Thus, we performed a randomized double-blind, placebo-controlled trial enrolling obese adolescents to analyze the impact of VD supplementation associated with a lifestyle program mediated-weight loss (including aerobic training and reduced caloric diet) on vascular function.

## **Materials and Methods**

### *Study Population*

The VIDADO trial (NCT02400151) is a clinical study designed to examine the effect of a lifestyle program combined or not with VD supplementation on fat mass and cardiovascular-metabolic risks in OA [Morrissey, in submission]. The experimental design, population recruitment procedure, and data about eligibility, compliance and drop-out have been reported in details elsewhere (Morrissey, in submission). Briefly, twenty-six OA, 12 to 17 years old, were enrolled in a paediatric weight management clinic in the south of France and 23 puberty-matched normal-weight controls (NW) were volunteers (case-control study). To avoid seasonal variations, all adolescents were considered for inclusion during March-April, the first year (2015) and March-April, the second year of inclusion (2016). Written, informed consent was obtained from all adolescents and their parents.

BMI z-scores were calculated. Values greater than 3 defined severe obesity. OA were randomized into two groups, receiving every morning a fruit juice, without (ONS; n=13) or

with (OS; n=13) VD supplementation (4000 IU/d of VD<sub>3</sub> UVEDOSE 100000 IU/2 mL, Crinex laboratory, France) (Biancuzzo et al., 2010b). All OA followed a three-month weight-loss program while NW were asked not to change their lifestyle habits. Two adolescents in the OS group left the clinic before the end of the program for personal reason (at 3 months, OS=11). Daily throughout the clinic program, the OA received both standard and personalized balanced meals prescribed by dieticians based on a balanced distribution of macronutrients: carbohydrates (55%), proteins (15%), and lipids (30% total, with less than 10% saturated fat). Their total daily food intake was calculated to enable them to reach a negative balance of 500 kcal/day. During the 3 months, aerobic training consisted of 180 min/week of supervised moderate-to-vigorous intensity exercise as previously described (Morrissey et al., 2018).

#### *Demographic, clinical and biological parameters*

Measurements of anthropometrics and biological blood markers were performed at baseline and after 3 months in OA and in controls. Body composition was assessed by dual-energy x-ray absorptiometry. Blood samples were collected to assess concentrations of fasting glucose, insulin, high sensitive C-reactive protein (CRP<sub>us</sub>) and 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentrations. Insulin resistance was estimated by the calculation of the homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) index (Mathiews 1985). Blood pressure was measured on the left arm by an automated system (Dinamap, GE Medical Systems, Milwaukee, USA).

#### *Vascular measurements*

Both macro and microvascular measurements were performed at inclusion and after 3-month program. Adolescents were examined in a supine position, after a 20 minutes resting period, in

a room maintained at 22- 24°C, after at least 3 hours of fasting and abstinence from caffeine and strenuous exercise for 24 hours. All vascular measurements and off-line analyses were performed by 2 observers (AV, CM) blinded to group allocation.

Ultrasonographic analyze of brachial artery properties was performed by the same investigator (A.V.), according to the International Brachial Reactivity Task Force Guidelines (Corretti et al., 2002). Brachial measurements were achieved using high-resolution vascular ultrasonography (MyLab30, Esaote SpA, Firenze, Italy), with a 10-MHz multi-frequency linear probe. B-mode images and Doppler signals were continuously and simultaneously recorded for off-line analysis. All results were calculated as the average of 5 consecutive measurements. Flow mediated dilation (FMD), a well-established non-invasive method to estimate endothelial function in conduit artery, was performed. Briefly, a pneumatic cuff was put on the right forearm near the elbow. The ultrasound probe was placed approximately midway between the antecubital and axillary regions, and baseline brachial artery diastolic lumen diameter was measured. The cuff was then inflated to 250 Hg mm for 5 minutes before sudden cuff deflation induced post-ischemic hyperemia. Fifteen minutes later, baseline measurements were repeated before 0.4 mg of isosorbide dinitrate (Isocard, Schwarz Pharma, Monheim, Germany), an endothelium-independent vasodilator, was given sublingually to assess endothelium-independent vasodilation (nitrate-mediated dilation, NMD). This procedure is described in detail elsewhere (Vinet et al., 2018)(Montero et al., 2014b). FMD and NMD were expressed as the percentage change of peak diastolic brachial diameter after reactive hyperemia and exogenous organic nitrate administration, respectively, relative to the baseline diastolic diameter. Time-averaged mean blood flow velocity and blood flow were determined. Shear rate ( $s^{-1}$ ) was calculated as  $4 \times$  time-averaged mean blood flow velocity/mean brachial diameter, to estimate resting and peak shear stress (Wray et al., 2005). FMD was normalized by the delta shear rate ( $\Delta$ shear rate) calculated from peak brachial shear rate minus resting brachial shear

rate (Thijssen et al., 2011b). Within-subject coefficient of variations in our laboratory at rest were 1.8% for arterial diameters, 13.2% for time averaged mean velocity and 12.7% for blood flow (Walther et al., 2008).

Microvascular assessment of cutaneous blood flow (CBF) was performed by one investigator (D.M.). Prior commencing procedures, the arm was immobilized with a vacuum cushion. Microvascular endothelium-dependent and independent vasodilation was assessed using a laser speckle imaging system with a laser wavelength of 785nm (LSCI, PeriCam PSI System®, Perimed, Järfälla, Sweden) in combination with transdermal iontophoresis technique on the ventral face of the forearm skin. LSCI uses the random speckle pattern generated by the illumination of the tissues under study by a coherent laser light. The sampling frequency was 18 Hz and the distance between the laser head and skin surface was fixed at 15cm (Mahé et al., 2011). The perfusion values from the skin were calculated using the manufacturer's software (PimSoft 1.2.2.0®; Perimed, Järfälla, Sweden). To investigate the endothelium-dependent and independent vasodilation, the site was iontophoresed with a single dose of acetylcholine (ACh) and of sodium nitroprusside (SNP). Iontophoresis is a non-invasive method allowing local migration of vasoactive drugs, electrically charged molecules, through the skin by use of a low electric current provided by a current controller delivering device (PF 751 Perilont systems, Perimed, Järfälla, Sweden). Subsequently, basal CBF was measured over a 2-min period, iontophoresis of ACh or SNP was performed (200 µl of 1% solution dissolved in sodium chloride) in order to achieve a plateau of the response. As recommended by Loader et al (Loader et al., 2017), ACh was administrated with an anodal current of 0.02 mA during 200s and SNP was administrated with a cathodal current of 0.02 mA during 400 s. CBF values were averaged over a 10 second period at the maximal plateau. The CBF responses were expressed in cutaneous vascular conductance (CVC), which is the flow in perfusion unit divided by the mean

arterial pressure in mmHg to equalize differences in blood pressure between participants (Roustit and Cracowski, 2013b).

### *Statistical method*

The statistical analysis was performed with MedCalc. Due to the small sample size (<30), we performed non-parametric statistical tests involving median comparisons. At first, we run Mann-Whitney Tests between OA and NW to check the baseline. We also compared OS and ONS with Mann-and-Whitney tests. Then we computed Wilcoxon Signed-Rank tests to compare the effect of the program in OS and ONS. Finally, Spearman correlations were used to explore relationships between delta 25(OH)D and delta vascular outcomes in all obese.

## RESULTS

The main clinical subject characteristics are shown in Table 1.

At inclusion, OA had significantly higher BMI, BMI-Z score and fat mass than NW. OA had significant lower 25(OH)D concentration, higher systolic blood pressure, HOMA-IR and CRP levels than NW. VD insufficiency (defined by 25(OH)D levels < 50 nmol.L<sup>-1</sup> (Saggese et al., 2018) was detected in 73% (18/26) of OA and in only 22% (5/23) NW. OA (OS and ONS) were not different with respect to age, clinical and biological parameters except for HOMA-IR with higher values in OS than in ONS. While maximal shear rate and NDD did not differ between groups, OA had lower FMD than NW. However, when FMD was indexed to  $\Delta$ shear rate, there was no longer significant difference between OA and NW (Table 2). In contrast, OA exhibited lower ACh and SNP CVC increase with similar baseline CVC in comparison with NW. OS and

ONS were not different with respect to basal macro- and microcirculation parameters. Concentration in 25(OH)D was not correlated with any vascular marker despite a tendency with ACh CVC increase ( $r=0.26$ ,  $p=0.09$ ).

After 3-month intervention program (i.e in June), 25(OH)D increased and BMI, HOMA-IR and CRP decreased in both OS and ONS. Correction of VD deficiency (to a level above 50 nmol/L) was achieved in all OS and in 70% (9/13) of ONS. Interestingly, ACh and SNP CVC only improved in OS group (Table 2). In both groups, delta change of 25(OH)D significantly correlated with delta change of both ACh CVC ( $r=0.49$ ,  $p=0.03$ ) and SNP CVC ( $r=0.54$ ,  $p=0.02$ ). Delta change of SNP CVC significantly correlated with delta change of HOMA-IR ( $r=-0.53$ ,  $p=0.02$ ).

## DISCUSSION

This double-blind randomized controlled trial exhibits main findings: (i) VD supplementation during a weight loss program improved microcirculation function without effect on macrocirculation function and (ii) the greater improvements of peak responses to ACh and SNP were observed in OA who got the greater 25(OH)D increase. This result may add new evidence for a vasculoprotective function of VD and consequently may be an important paediatric health standpoint.

As expected, and in accordance with previous studies, 73% of OA had VD insufficiency at baseline (Ganji et al., 2011a). The low 25(OH)D in OA could be explained by different processes including: limited skin exposure to UV B radiation because of more cover-up and/or less outdoor activities, impaired ability of skin to convert 7-dehydrocholesterol to VD<sub>3</sub>, sequestration of VD in adipose tissue and its volumetric dilution (Pourshahidi et al., 2015).

However, in our study, no relation was found between 25(OH)D and vascular parameters, assayed in all OA, whereas VD insufficiency was previously associated with endothelial dysfunction in adults (Al Mheid et al., 2011)(Brewer et al., 2011). In obese children, observational studies evaluating association between VD and macrovascular dysfunction reported discrepancies (Codoñer-Franch et al., 2012d) (Pacifico et al., 2011b)(Javed et al., 2016). A study reported a link between VD insufficiency and endothelial activation, reflected by elevated VCAM in obese children with VD insufficiency (Codoñer-Franch et al., 2012d). However, endothelial dysfunction (i.e altered FMD) is not correlated with low 25(OH)D levels in obese children (Pacifico et al., 2011b) (Javed et al., 2016). The results of these two studies must be discussed because Javed et al had no control group (Javed et al., 2016) while Pacifico et al (Pacifico et al., 2011b) did not include FMD comparison, so that they prevented from conclusion about benefit/risk on endothelial function in obese children. As regards to macrovascular parameters, increased shear was reported as the stimulus for FMD (Thijssen et al., 2011b). In our study, when normalized for delta shear rate, FMD was no significantly different between OA and NW suggesting preserved brachial endothelial function in OA. This result is in accordance with recent and larger published works comparing obese children and adolescents to their normal-weight counterparts (Charakida et al., 2012b) (Montero et al., 2014b), even discrepancy has been observed (Tounian et al., 2001b).

Microcirculation is increasingly recognized to be independently involved in vascular diseases, previously thought to be a macrocirculation matter (Weinsperger 2012). Numerous studies about microvascular function in obese children reported conflicting results (Chin et al., 1999b) (Bhattacharjee et al., 2010b) (Schlager et al., 2011b) (Khan et al., 2003) (Monostori et al., 2010b) (Hedvall Kallerman et al., 2014) (Montero et al., 2014b). Even the trials based on a comparable skin microcirculation and iontophoresis technique to ours, reported conflicting results. Montero et al (Montero et al., 2014b) reported preserved microcirculation function in

severe OA without comorbidities while Monostori et al (Monostori et al., 2010b) reported decreased SNP perfusion response with normal ACh response in hypertensive OA. Interestingly, in healthy children, Khan et al (Khan et al., 2003) showed that microvascular function is impaired in subjects with elevated post-feeding glucose levels. Accordingly, OA in our study were insulin-resistant (HOMA-IR >3.16, the cut-off previously defined for insulin resistance (Codoñer-Franch et al., 2011). Thus, one may hypothesize that early insulin resistance, among other metabolic disturbances in OA, could contribute to impaired microvascular function. In our knowledge, there is no study on the potential relationship between microcirculation and VD insufficiency in obese children. Given the increasing clinical significance of microvascular dysfunction in the development of cardiovascular disease, it is possible that the link between VD and cardiovascular disease may be explained by a microvascular component.

The effects of vitamin D supplementation in obese children are still poorly understood (Szlagatys-Sidorkiewicz et al., 2017), especially effects on vascular function. Our weight-loss program improved 25(OH)D levels in OA whatever the group, OS and ONS - presumably due to hemodilution and to sun exposure. In our experiment, VD supplementation during weight loss program produced distinctive vascular functional effects, mainly depending on artery type. We found no effect of 3 months VD supplementation on macrovascular function. Recent meta-analysis in adults have reported a non-significant effect of VD supplementation alone on endothelial function (Beveridge et al., 2018a) (Mazidi et al., 2017). This could be related to the lack of baseline brachial endothelial dysfunction in OA, so that VD supplementation has no additional impact. To our knowledge, only one prior study evaluated the effect of 100 000 UI VD3 once a month for 3 months on FMD in OA (Javed et al., 2016) and concluded to no significant change.

In contrast, microvascular function (ACh and SNP CVC increase) improved after 3-months, but only in OS group, who exhibited a microcirculation dysfunction at baseline. Differences in macro- and micro-vascular responses to VD supplementation may be explained by differences in physiological control mechanisms of conduit and resistance arteries. Mechanisms implicated in 25(OH) D vascular function control is not-well understood and is beyond the scope of the study. Several hypothesis can be formulated: vascular cell types-specific responses to VD, different amounts of VDR and/or less 1-alpha hydroxylase content, different roles of active VD and VDR in the regulation of vascular and perivascular supporting cell function (Jamali et al., 2018).

The weight-loss program combined with VD supplementation resulted in a significant increase of microcirculation function with the greatest enhancement obtained in those OA who improved more 25(OH)D. A recent meta-analysis in adults (Beveridge et al., 2018a), based on only 3 trials (Witham et al., 2013) (Dreyer et al., 2014) (Stricker et al., 2012), has shown a small significant effect of VD supplementation alone on microcirculation function (SMD, 0.43; 95% CI, 0.09–0.76; P=0.01). The clinical significance of this result is not clear.

In addition, improvement in microcirculation in OS can be linked to an increase in VD, but also to a decrease in inflammatory status and HOMA-IR. In fact, VD supplementation could have anti-inflammatory effects through the reduced expression of pro-inflammatory molecules (Zanetti et al., 2014) even a non-significant effect of VD supplementation on inflammatory markers was found in a meta-analysis on obese adults (Jamka et al., 2016). Accordingly, we did not find any relationship between the decrease in CRP and the improvement in ACh and SNP responses. In contrast, delta SNP CVC increase negatively correlated with decrease of HOMA-IR. The role of VD in the regulation of insulin sensibility has been highlighted (Teegarden and Donkin, 2009b). However, Jamka et al (2015) found no effect of VD

supplementation on HOMA-IR in adults (Jamka et al., 2015b). The lack of effect has also been reported in OA (Nader et al., 2014). Insulin resistance has been postulated to trigger prohypertrophic effects on vascular smooth muscle cells, leading to the development of vascular dysfunction (de Jongh et al., 2008). We already reported increased insulin vasoreactivity after a lifestyle program in adults with metabolic syndrome (Vinet et al., 2015). This change in insulin vasoreactivity was partly related to changes in inflammatory markers. Thus, we may speculate that HOMA-IR decrease in OA could improve insulin vasoreactivity and, as a consequence, could also improve microcirculation function.

The strengths of our study are its double-blind randomized placebo control design, replacement of vitamin D in line with international guidelines, the 100% compliance by having the OA hospitalized as well as the use of techniques that specifically assessed both conduit artery and microcirculatory vascular function. The present study has several limitations. First, the relatively small sample size restricts the possibility of extrapolation to a wider population. Second, it remains unclear which interventional factor caused the observed results as diet, exercise and VD supplementation may both have a positive separate or synergic effect on 25(OH)D levels and vascular profiles.

In summary, our data indicate that daily VD supplementation during a weight loss program associated diet and exercise is able to significantly improve microcirculation function in OA with microcirculation dysfunction at baseline. Our results need to be confirmed in the future, in larger studies before VD supplementation could be recommended in a lifestyle program to counteract vascular impairment of childhood obesity.

**Table 1**  
Baseline characteristics of participants.

Characteristics	All obese (n=26)	OA subgroups		P value OS vs ONS	Normal-weight (n=23)	P value All obese vs NW
		OS (n=13)	ONS (n=13)			
<b>Demographic parameters</b>						
Age-yr	14.2 (13.6-14.8)	14.6 (13.6-14.8)	14 (13.1-16.7)	.959	14.9 (14.2-15.3)	0.193
Sex (M-F)	10-16	5-8	5-8	1.0	10-13	.728
<b>Clinical parameters</b>						
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.5 (31.2-36.2)	33.8 (31.3-36.5)	32.7 (31.1-36.3)	0.614	19.2 (18.5-20.2)	<.0001
BMI Z-score	4.0 (3.5-4.5)	3.9 (3.4-4.7)	4.0 (3.4-4.6)	0.959	0.1 (-0.3-0.7)	<.0001
Fat mass (%)	41.4 (39.8-43.2)	41.9 (39.8-43.6)	41.1 (36.5-44.3)	0.555	23.2 (18.4-27.7)	<.0001
SBP (mmHg)	112 (106-120)	112 (106-123)	113 (106-120.5)	0.797	105 (102-109)	<.001
DBP (mmHg)	66 (62-68)	59 (57-60)	61 (59-68)	0.039	67 (63-69)	.006
<b>Biological parameters</b>						
25(OH)D (nmol/L)	38 (35.4-47.8)	39 (38-55.8)	34.5 (32-58.6)	0.191	62 (55-68.3)	<.0001
n deficiency in 25(OH)D < 37.5 nmol/L	8	1	7	-	0	-
n insufficiency in 25(OH)D < 50 nmol/L	18	9	9	-	5	-
HOMA-IR	4.0 (3.3-5.6)	5.6 (3.5-6.7)	3.4 (2.3-4.0)	0.01	2.23 (1.4-2.8)	<.0001
CRP (mg/mL)	6.1 (3.3-10.1)	7.9 (3.6-13.7)	4.4 (2.3-10.1)	0.331	0.3 (0.2-0.9)	<.0001

**Table 2.** Baseline vascular characteristics of participants.

Vascular Parameters	Normal-weight (n=23)	All obese (n=26)	P value All obese vs NW	OA subgroups		P value OS vs ONS
				OS (n=13)	ONS (n=13)	
<b>Macrocirculation</b>						
FMD (%)	9.60 (7.69-12.93)	6.66 (5.13-8.09)	<b>0.015</b>	6.06 (3.22-10.52)	6.89 (5.19-8.77)	0.442
Peak shear rate (s <sup>-1</sup> )	367.8 (569.0-753.5)	587.1 (507.6-660.2)	0.206	598.7 (490.7-737.8)	578.2 (406.7-763.1)	0.699
FMD/deltaSR (%.s <sup>-1</sup> )	0.019 (0.015-0.036)	0.014 (0.011-0.023)	0.141	0.012 (0.007-0.024)	0.019 (0.009-0.039)	0.349
NMD (%)	22.25 (18.18-29.21)	19.35 (15.41-22.38)	0.107	16.61 (12.24-20.90)	20.34 (15.80-26.24)	0.061
<b>Microcirculation</b>						
Resting CVC (PU.mmHg-1)	4.5 (3.7-5.3)	4.5 (4.0-5.1)	0.991	4.4 (3.7-5.7)	4.6 (3.4-5.1)	0.880
Peak ACh CVC (PU.mmHg-1)	11.6 (8.7-13.1)	8.9 (7.9-10)	0.073	8.3 (6.7-9.7)	9.4 (7.9-13.1)	0.124
ACh CVC increase (%)	147.7 (114.8-180.9)	113.3 (69.6-136.5)	<b>0.013</b>	80.7 (40.5-134.3)	124.8 (77.6-148.7)	0.1846
Peak SNP CVC (PU.mmHg-1)	9.7 (8.5-12.9)	9.0 (7.2-10.0)	0.17	53.3 (36.2-118)	120.4 (72.5-153.1)	0.07
SNP CVC increase (%)	136.0 (86.7-170.9)	94.6 (42.5-123.8)	<b>0.033</b>	53.3 (36.2-117.9)	120.4 (72.5-153.1)	0.08

**Table 3.** Three-month changes characteristics of adolescents involved in the study

Outcome variables	OS		ONS	
	Baseline	3-months	Baseline	3-months
25(OH)D (nmol/L)	39 (38-55.8)	70 (59.8-91.7)***	34.5 (32-58.6)	60 (40.2-70.5)***
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.8 (31.3-36.5)	31.6 (28.7-33.1)***	32.7 (31.1-36.3)	30.1 (29.2-32.7)***
HOMA-IR	5.6 (3.5-6.7)	3.3 (2.9-4.2)**	3.4 (2.3-4.0)	2.3 (1.4-3.1)*
CRP (mg/mL)	7.9 (3.6-13.7)	6.5 (1-7.9)*	4.4 (2.3-10.1)	1.8 (0.7-2.5)**
FMD/ $\Delta$ shear rate (%.s-1)	0.012 (0.007-0.024)	0.014 (0.007-0.02)	0.019 (0.009-0.039)	0.011 (0.009-0.025)
NMD (%)	16.61 (12.24-20.90)	16.64 (10.51-19.96)	20.68 (16.17-27.55)	22.54 (16.07-26.85)
ACh CVC increase (%)	80.7 (40.5-134.3)	137.13 (90.1-169.9)*	124.8 (77.6-148.7)	126.74 (112-151.8)
SNP CVC increase (%)	63.5 (36.2-117.9)	149.3 (66-184.9)*	120.4 (72.5-153.1)	131.5 (34.6-207.1)

\* Significant difference between baseline and 3-months

# **DISCUSSION GENERALE**

**La première étude** a révélé, dans un premier temps, que les adolescents obèses ont paradoxalement une réactivité microvasculaire supérieure aux adolescents normopondérés de même âge. Il est important de noter que les adolescents obèses inclus dans cette étude 1 ne présentaient pas d'insulino-résistance : leur HOMA-IR était en moyenne égal à 2, inférieur à 3.16, seuil d'insulino-résistance défini chez l'enfant (Keskin et al., 2005). Dans un deuxième temps, les deux modalités d'entraînement (MCT et HIIT) ont engendré une diminution des ratios pic de perfusion/perfusion basale chez les adolescents obèses. Ces résultats confirment une fois de plus qu'il existe une fonction microvasculaire préservée voire supérieure chez les adolescents obèses par rapport aux adolescents sains, et l'entraînement aérobie produit des effets positifs au niveau du remodelage microvasculaire chez ces mêmes adolescents. Bien que notre résultat d'une conductance vasculaire cutanée élevée chez les adolescents obèses soit inattendu de prime abord, notre observation est conforme à d'autres études antérieures menées auprès d'enfants obèses, utilisant différentes approches (iontophorèse d'acétylcholine, hyperthermie ou PORH) (Chin et al., 1999a; Monostori et al., 2010a; Montero et al., 2014a; Schlager et al., 2011a). Les mécanismes susceptibles d'expliquer les résultats observés ne sont pas totalement connus. Bien que certaines études aient déjà rapporté une diminution de la biodisponibilité du NO chez les enfants obèses (Karpoff et al., 2009c; Tounian et al., 2001c), des effets compensatoires liés à d'autres mécanismes vasoactifs pourraient induire ce phénomène de réactivité microvasculaire préservée voire augmentée. Dans une récente revue, Cracowsky et Roustit (Cracowski and Roustit, 2016) ont rapporté que lors du PORH, le pic de perfusion et la phase du décours de la réponse dépendaient principalement de l'implication des nerfs sensitifs et des acides époxyécosatriénoïques (principaux facteurs hyperpolarisant (EDHF)) et non du NO. Conformément à ces résultats, la valeur plus élevée de la réponse hyperémique lors du test PORH peut être interprétée comme un signe de phénomène compensatoire des facteurs EDHF à l'altération fonctionnelle du NO afin de maintenir une

fonction endothéliale normale, tel qu'on put le suggérer Patik et al., (2016). Il existe un consensus de plus en plus établi pour dire que la dysfonction microvasculaire précède la dysfonction macrovasculaire, reflétant ainsi une étape précoce des maladies vasculaires (Anderson et al., 2011; Flammer et al., 2012). L'observation d'une réactivité microvasculaire plus importante chez les adolescents obèses avant le programme interventionnel, laisse suggérer un phénomène de compensation transitoire ayant lieu pendant la période de l'adolescence des jeunes sujets obèses (Montero et al., 2012b). D'autres recherches sont nécessaires pour mieux évaluer la progression du dysfonctionnement microvasculaire tout au long de la vie des personnes obèses.

L'activité physique est une pierre angulaire du traitement de l'obésité. Cependant, la littérature actuelle n'a pas établi de consensus en ce qui concerne les modalités d'exercice censées être les plus efficaces pour améliorer les paramètres anthropométriques, métaboliques, de performance et de fonction vasculaire des publics souffrant d'obésité. Notre étude a démontré que 3 mois d'entraînement en MCT ou HIIT avaient des effets positifs comparables au niveau de la composition corporelle, des marqueurs métaboliques et de la condition aérobie chez les adolescents obèses. Nos résultats de données anthropométriques sont en accord avec une méta-analyse de 6 études cliniques (García-Hermoso et al., 2016) ayant comparé un mode d'entraînement HIIT avec d'autres modes d'entraînement chez les enfants obèses. Par contre, nous avons observé une amélioration comparable de la condition aérobie quelle que soit la modalité d'entraînement (MCT et HIIT), notre résultat diffère de ceux rapportés dans la méta-analyse citée ci-dessus, faisant état d'une amélioration de VO<sub>2</sub>max supérieure après un programme HIIT comparé à d'autres modalités d'entraînement. Toutefois, seuls Araujo et al., (Corte de Araujo et al., 2012) ont strictement comparé des programmes en MCT et HIIT, en rapportant une amélioration similaire de la condition aérobie après les deux modalités d'entraînement. Eu égard à la dépense énergétique 37% inférieure de l'entraînement HIIT par

rapport à l'entraînement MCT, HIIT est une modalité d'entraînement adaptée susceptible d'être utilisée pour améliorer la composition corporelle et la condition aérobie des enfants obèses.

Bien que les effets bénéfiques de l'activité physique sur les paramètres macrocirculatoires soient bien connus (Dias et al., 2015), il existe relativement peu de données au niveau microcirculatoire en relation avec l'obésité infantile. Montero et al. ((Montero et al., 2014a) ont étudié les effets potentiels d'une intervention de 5 mois incluant un programme d'activité physique associé à un programme diététique hypocalorique sur la fonction microcirculatoire chez les adolescents obèses. Les auteurs n'ont pas observé d'effet d'une amélioration de l'intervention sur le pic de perfusion sanguine après l'iontophorèse d'acétylcholine et de nitroprussiate de sodium et après un test d'hyperthermie. Egalement, les valeurs de pic de perfusion et de pic de conductance vasculaire cutanée rapportées dans notre étude n'ont pas été modifiées par le programme d'entraînement quel que soit la modalité (MCT et HIIT). Toutefois, les ratios pic de perfusion/perfusion basale ont diminué de façon significative dans les deux groupes d'entraînement, due à l'augmentation de la perfusion à l'état basal (tendance  $p=0.074$ ). Nous pouvons supposer que des épisodes de répétitions d'exercice physique, sollicitant le corps entier et stimulant la vasodilatation cutanée thermorégulatrice, peuvent induire un remodelage vasculaire, soit par l'augmentation de la taille des petites artérioles, soit grâce à une plus grande densité capillaire (Green et al., 2004). La littérature a déjà rapporté une association entre l'exercice physique et l'augmentation des facteurs d'angiogenèse, tels que des facteurs de croissance endothéliaux vasculaires et les facteurs induits par l'hypoxie (Hoier and Hellsten, 2014). En outre, Moares et al (de Moraes et al., 2016) ont montré une amélioration de la densité capillaire à l'aide de la technique de microscopie vidéo intravitale suite à un entraînement de type aérobie de faible intensité réalisé chez des patients atteints de diabète 1. Dans notre étude, l'amélioration potentielle de la densité capillaire en condition basale n'a pas été accompagnée par des changements au niveau du recrutement de

capillaires pendant la phase hyperémique du PORH avec l'entraînement, i.e la valeur du pic de perfusion n'ayant pas augmenté avec l'entraînement. Nous émettons l'hypothèse qu'une période d'entraînement prolongée aurait été nécessaire pour observer une amélioration de la fonction microcirculatoire chez les adolescents obèses (Bruyndonckx et al., 2015; Tew et al., 2011).

Notre étude comportait certaines limitations. Premièrement, la taille de l'échantillon de sujets étudiés relativement faible ne permet pas d'extrapoler nos résultats à une plus large population. Deuxièmement, la technique de fluxmétrie laser Doppler ne mesure pas la perfusion sanguine en valeur absolue mais donne un index de perfusion relatif exprimé en unités arbitraires internationales (AU). Troisièmement, les protocoles de réentraînement à l'effort n'étaient pas isocaloriques ; toutefois, la prise en compte des différences de coût énergétique moyen par session fixées en covariable n'a pas changé nos résultats finaux. Finalement, la question se pose de savoir quel facteur de l'intervention est le plus en mesure d'expliquer les résultats observés, puisque les programmes diététiques et d'entraînement peuvent respectivement avoir un effet positif et/ou synergique sur les profils anthropométriques, métaboliques et vasculaires. Un groupe contrôle d'adolescents obèses n'ayant pas exercé d'activité physique n'a pas été inclus dans cette étude. Ce design d'étude n'était pas possible dans le centre pédiatrique de traitement de l'obésité infantile pour des raisons de modifications difficiles de l'organisation interne du centre (combinant rythme scolaire, régime diététique et activité physique). Néanmoins, comme tous les adolescents obèses suivaient le même régime alimentaire, seule la modalité d'exercice différenciait les deux groupes (MCT et HIIT), les changements observés peuvent donc être spécifiquement attribués au mode d'entraînement. Il sera intéressant de proposer des entraînements isocaloriques pour confirmer ces résultats. L'entraînement en circuits alternés et adaptés en HIIT était une approche originale et ludique

et il serait intéressant d'évaluer l'adhésion et le maintien de l'activité physique à moyen et long terme dans nos populations.

**Notre étude d'intervention princeps chez les adolescents obèses (Etude 2 article 1) a confirmé que l'obésité pédiatrique altère de nombreuses variables cardio-métaboliques.**

A l'inclusion, une prévalence de la résistance à l'insuline, un rapport TG/HDL-C plus élevé et un statut inflammatoire supérieur à celui des adolescents de poids normal a été nettement mis en évidence. Le ratio TG / HDL-C a été rapporté comme un marqueur de l'augmentation de la rigidité artérielle chez les jeunes en état d'obésité (Urbina et al., 2013). Par ailleurs, nous avons constaté dans l'étude VIDADO, contrairement à l'étude sur les modalités d'entraînement, que les valeurs d'insuline et de HOMA-IR étaient chez les adolescents obèses supérieures aux seuils défavorables précédemment définis : soit  $> 100$  pmol/L (Delvin et al., 2010) et  $> 3,16$  (Keskin et al., 2005), respectivement. Nous avons confirmé que les statuts en 25 (OH) D étaient très faibles chez les adolescents obèses. Dans notre étude, un déficit en 25 (OH) D  $< 50$  nmol / L, soit égal à 20 ng/mL (ANSES, 2016), a été retrouvé pour 70% de nos sujets obèses. Nos résultats sont en accord avec d'autres études dont celle de Ganji (Ganji et al., 2011b) L'insuffisance en VD associée à l'obésité peut être expliquée par de nombreux facteurs. Les explications plausibles sur ce faible taux chez les enfants et adolescents obèses incluent une exposition cutanée aux rayons UV-B limitée en raison d'une plus grande couverture de la peau par les vêtements et / ou moins d'activités réalisées en extérieur, une altération de la capacité de la peau à convertir le 7-déhydrocholestérol en VD<sub>3</sub>, une séquestration dans le tissu adipeux ainsi qu'une dilution volumétrique plus importante chez les adolescents obèses (Pourshahidi 2015). Aussi, le stockage et la dilution de la VD dans la masse grasse réduisent-ils la biodisponibilité systémique de la VD qui ne peut être transformée par le foie et les reins en sa forme biologiquement active. Ce statut faible en 25(OH)D a été associé à

des anomalies métaboliques (résistance à l'insuline, hyperlipidémie, hypertension) chez les enfants obèses (Gilbert-Diamond et al., 2010 ; Barja-Fernandez et al., 2018).

Dans notre étude, nous avons montré une augmentation du statut en 25(OH)D dans les deux groupes d'adolescents obèses, supplémenté et non supplémenté en VD, au bout des 3 mois du programme combinant nutrition et activité physique. Lors de la perte de poids, il y aurait un relargage de 25(OH)D dans la circulation, ce qui a été précédemment rapporté chez les adultes obèses (Gangloff et al., 2015; Pannu et al., 2016). Tzotzas et al (2010) ont ainsi rapporté qu'une réduction de 10% du poids corporel entraînait une augmentation de la concentration en VD chez des individus obèses auparavant insuffisants en VD. Bien que les ONS aient pu augmenter de manière significative (+ 35%) leurs taux de 25 (OH) D, le statut en VD a été maintenu au niveau d'insuffisance chez 38% des OA. Néanmoins, une supplémentation en VD sur la base de 4000 UI / jour administrée aux OA pendant 3 mois au cours d'un programme de perte de poids a été efficace pour atteindre des taux adéquats de 25 (OH) D.

Par ailleurs une synthèse cutanée a pu contribuer également à l'amélioration du statut en 25(OH)D, car notre intervention intégrant des séances d'activité physique à l'extérieur s'est déroulée pendant une période plus ou moins ensoleillée. D'ailleurs, le groupe témoin adolescent de poids normal, a eu également un statut en 25 (OH) augmenté (de l'ordre de 20%). La supplémentation en VD de 4000 UI a permis aux adolescents obèses d'atteindre des taux plasmatiques de 25(OH)D satisfaisants (près de 75 nmol/L), tels que définis par l'Anses (2016).

Dans l'analyse en prenant en compte seulement les sujets présentant une insuffisance en 25(OH)D (soit < 50 nmol/L) à l'inclusion, une tendance a été mise en évidence entre une augmentation plus importante de 25(OH)D et une diminution plus importante de la perte de masse grasse ( $p$  proche de 0,1), alors que des études antérieures faisaient état d'une augmentation linéaire significative de la concentration de 25(OH)D circulante en fonction de

l'adiposité chez les adultes obèses (Gangloff et al., 2006, Rosenblum et al., 2012). Chez des enfants américains de phototype noir ou caucasien, des niveaux plus bas de 25(OH)D ont été également associés à un degré d'adiposité plus élevé (Magge et al., 2018). La méta-analyse de Golzarand et al. (2018) incluant plusieurs essais cliniques n'a pas validé l'hypothèse selon laquelle la supplémentation en VD augmenterait la perte de graisse corporelle. Sachant que la parathormone (PTH) est inversement associée à la VD, et que PTH/25(OH)D pourrait être un bon marqueur du syndrome métabolique et des désordres associés, nous avons pu observer dans notre étude que le ratio PTH/25(OH)D a été amélioré après notre intervention de 3 mois et que son changement était corrélé à celui de l'IMC pour les deux groupes, supplémenté et non supplémenté, mais sans effet additionnel de la supplémentation.

Même si les deux groupes OS et ONS présentaient une pression artérielle adéquate, l'augmentation de 25(OH)D était significativement corrélée à la diminution de la pression artérielle dans le groupe supplémenté. Dans différentes études incluant des adolescents, un statut insuffisant en 25(OH)D a été associé à une pression artérielle diastolique élevée. Petersen et al. ont montré que chaque augmentation sérique de 25(OH)D de 10 mmol/L était associée à une pression artérielle diastolique plus basse (-0,3 mmHg, intervalle de confiance à 95% - -0,6, -0,0) (p 0,02), indépendamment de l'adiposité (Petersen et al, 2015). Lors de la revue systématique et méta-analyse de Beveridge et al (Beveridge et al., 2018b) incluant des essais randomisés chez des adultes, une très légère réduction de la pression artérielle diastolique a été observée chez des sujets hypertendus recevant une supplémentation en VD. Les auteurs concluent que la VD n'est pas un agent hypotenseur. A l'inverse, il a été montré que l'augmentation du statut en 25(OH)D était associée à une diminution de la PTH et que la PTH est liée à différents mécanismes moléculaires potentiels pouvant contribuer à un impact bénéfique sur l'hypertension (Zhang and Zhang, 2018), la supplémentation en VD pourrait jouer un rôle indirect sur la fonction vasculaire.

Notre étude princeps n'a mis en évidence aucun effet bénéfique additionnel de la supplémentation en VD sur la glycémie et la résistance à l'insuline, alors qu'une amélioration de la sensibilité à l'insuline avait été observée après une supplémentation en vitamine D (Zuk et al., 2016). De manière tout à fait surprenante, un effet significatif a été obtenu dans le groupe non supplémenté ce qui pourrait suggérer une annihilation de la supplémentation en VD par rapport à l'intervention sans supplémentation sur le métabolisme du glucose. Une hypothèse serait que la dose de VD administrée dans notre étude ne serait pas adéquate pour obtenir un effet sur le métabolisme du glucose. Dans une méta-analyse récente (Golzarand et al., 2018) comprenant différentes populations (adultes, obèses, femmes, etc.), il a été montré, en se basant sur une analyse dose-effet, qu'il existe une association non linéaire entre le statut VD et le pourcentage de masse grasse. Les auteurs décrivent une courbe en U avec un optimal à 2000 UI. Il est possible qu'une relation non-linéaire existe également pour d'autres paramètres comme la glycémie ou le HOMA-IR.

Aucun rôle supplémentaire significatif d'un apport quotidien de la VD n'a été mis en évidence sur le métabolisme des lipides, ce qui n'est pas le cas pour d'autres études (Nwosu et al., 2013 ; Smotkin et al., 2007). Chez les enfants atteints d'obésité sévère, il a été rapporté que les concentrations de 25(OH)D étaient associées positivement aux taux de HDL-C (Iqbal et al., 2017).

La VD a été rapportée comme avoir une activité anti-inflammatoire (Colotta et al., 2017). Nous avons trouvé que l'inflammation, via la CRP, était principalement réduite dans le groupe non supplémenté, ce qui laisserait supposer une relation non-linéaire comme ce que nous avons décrit précédemment. Dans le groupe supplémenté une association significative a été trouvée entre les changements en PTH et la réduction de la CRP ( $p = 0.02$ ). Des études sont nécessaires pour mieux comprendre les effets de la VD sur l'inflammation et les effets doses.

**Le principal résultat de l'article 2 de notre étude 2 intitulé "Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on carotid intima-media thickness and compliance in obese adolescents" a été que chez les adolescents obèses déficients en VD à l'inclusion, la diminution plus importante des valeurs d'épaisseur intima-média carotidienne était notée chez les adolescents améliorant le plus leur taux de 25(OH)D. Cet effet n'a pas été expliqué par une diminution de l'inflammation.**

L'EIMc étant un marqueur de reconnu dans le diagnostic de l'athérosclérose et prédictif de la morbidité et de la mortalité cardiovasculaires chez l'adulte (Lorentz 2007), ce résultat pourrait apporter une nouvelle preuve de la fonction vasculo-protectrice de la vitamine D ; et apporter un point de vue primordial pour la santé des enfants. En revanche, la supplémentation en vitamine D associée à un régime alimentaire et à un entraînement à dominante aérobie n'a pas amélioré la compliance artérielle carotidienne chez les adolescents obèses.

Alors que l'insuffisance VD est associée à une rigidité artérielle accrue chez les adultes (Al Mheid et al, 2011 ; Mayer et al, 2012), nous n'avons pas observé de relation entre la concentration en 25(OH)D et la rigidité artérielle et les valeurs d'EIMc chez les adolescents obèses.

Ce résultat n'est pas universel chez les enfants obèses (Atabek 2014, Ashraf 2014; Pacifico 2011; Singh 2015). Au-delà de l'obésité, des faibles taux de 25 (OH) D chez l'enfant ont été associés à un risque accru de valeurs élevées d'EIMc à l'âge adulte (Juonala et al, 2015). Ainsi, étant donné que l'insuffisance en VD, des valeurs plus élevées d'EIMc et une plus faible compliance artérielle carotidienne coexistent chez les adolescents obèses, notre programme

combiné régime alimentaire + exercice + supplémentation en VD peut représenter une stratégie de prise en charge à temps réduit optimale pour contrecarrer ces altérations.

Le programme de perte de poids semble avoir contrebalancé la progression de la compliance artérielle carotidienne sans effet additionnel de la supplémentation en VD. Similairement, une méta-analyse récente (Rodriguez et al., 2016, Upalaet al., 2016) qui s'est intéressée aux effets de la supplémentation en VD au niveau de la rigidité artérielle n'a pas rapporté de preuve concluante sur ce sujet. Notre résultat a donc apporté de nouvelles connaissances selon lesquelles, même en combinaison avec un programme de perte de poids, la supplémentation en VD n'avait aucun effet synergique sur la compliance artérielle carotidienne.

D'après notre résultat, il semble donc important de mettre en place des stratégies interventionnelles afin de non seulement normaliser les taux en 25OHD mais aussi diminuer l'EIMc chez les adolescents obèses.

**Les principaux résultats de l'article 3 de notre étude 2 intitulé « Effect of vitamin D supplementation during weight loss program on micro- and macrocirculation in obese adolescents: a double-blind randomized trial VIDADO. » ont noté que (i) une supplémentation en VD pendant un programme de perte de poids a amélioré la fonction de microcirculation sans effet sur la macrocirculation et (ii) l'amélioration plus importante des réponses microvasculaires maximales à l'ACh et au SNP ont été observées chez les seuls AO supplémentés.** Ce résultat apporte des effets intéressants de la VD sur sa contribution possible sur la fonction vasculoprotectrice et constitue en conséquence une piste intéressante pour la santé de l'enfant.

Chez les enfants obèses, des études observationnelles ont rapporté une association entre la déficience en VD et le dysfonctionnement macrovasculaire chez l'enfant obèse (Codoñer-Franch et al., 2012 ; Pacifico et al., 2011 ; Javed et al., 2016). Une étude a mis en évidence un lien entre l'insuffisance en VD et l'activation endothéliale, reflétée par des taux de VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule 1) élevés chez les enfants obèses présentant une insuffisance en VD (Codoñer-Franch et al., 2012). Cependant, le dysfonctionnement endothélial (i.e FMD altéré) ne semble pas corrélé à de faibles taux de 25(OH)D chez les enfants obèses (Pacifico et al., 2011 ; Javed et al., 2016). Il est de plus en plus reconnu que la microcirculation est impliquée de manière indépendante dans le développement des maladies vasculaires, que l'on pensait autrefois être attribué à un seul problème au niveau de la macrocirculation (Weinsperger 2012). De nombreuses études sur la fonction microvasculaire chez les AO ont rapporté des résultats contradictoires (Chin et al., 1999) (Bhattacharjee et al., 2010) (Schlager et al., 2011; Khan et al., 2003; Monostori et al., 2010; Hedvall Kallerman et al., 2014; Montero et al., 2014).

Même les essais basés sur un territoire microvasculaire cutané et une technique de iontophorèse comparable à la nôtre, ont rapporté des résultats contradictoires. Montero et al. (Montero et al., 2014) ont montré que la fonction de microvasculaire était préservée chez les AO sévères sans comorbidités (notamment sans insulino-résistance : avec une valeur d'insuline basale égale à 43pmol/L en deçà du seuil de 100pmol/L défini par Delvin et al (Delvin et al., 2010), tandis que Monostori et al. (Monostori et al., 2010) ont trouvé une diminution de la réponse microvasculaire suite à la perfusion avec du SNP, avec une réponse normale à l'ACh chez des OA hypertendus.

Fait intéressant, chez des enfants en bonne santé, Khan et al. (Khan et al. 2003) ont montré que la fonction microvasculaire était altérée chez les sujets présentant une glycémie post-alimentation élevée. En conséquence, les adolescents obèses dans notre étude étaient

résistants à l'insuline (HOMA-IR > 3,16, seuil précédemment défini pour la résistance à l'insuline ; Codoñer-Franch et al., 2011). On peut donc émettre une hypothèse selon laquelle une résistance précoce à l'insuline, parmi d'autres perturbations métaboliques chez les AO, pourrait contribuer à une altération de la fonction microvasculaire. À notre connaissance, il n'existe pas d'étude sur le lien possible entre la microcirculation et l'insuffisance de VD chez les enfants obèses.

La composante microcirculatoire pourrait expliquer le lien potentiel souligné dans la littérature entre le statut en VD et les maladies cardiovasculaires. Des études sont nécessaires pour apporter de nouvelles connaissances à cette question.

A travers notre expérience, la supplémentation en VD au cours du programme de perte de poids a produit des effets fonctionnels vasculaires distincts, en raison principalement du type d'artère. Nous n'avons pas observé d'effet de la VD sur la fonction macrovasculaire après 3 mois de supplémentation. Une méta-analyse récente chez l'adulte a rapporté un effet non significatif d'une intervention basée uniquement sur une supplémentation en VD sur la fonction endothéliale (Beveridge et al., 2018; Mazidi et al., 2017). Notre résultat peut être attribué à l'absence de dysfonctionnement endothélial à l'inclusion chez les adolescents obèses, la supplémentation en VD n'a eu ainsi aucun effet additionnel. À notre connaissance, une seule étude a évalué l'effet de l'administration d'une dose mensuelle unique de 100 000 UI de VD3 sur une période de trois mois sur le FMD chez des adolescents obèses (Javed et al., 2016), pour conclure de l'absence de changement significatif. A l'inverse, la fonction microvasculaire (augmentation de ACh et SNP CVC) s'est améliorée après 3 mois dans le groupe OS, qui présentait une dysfonction microvasculaire à l'inclusion. Les différences de réponses macro et micro-vasculaires suite à la supplémentation en VD peuvent être expliquées par des différences dans les mécanismes de contrôle physiologiques des artères de conduit et de résistance. Les

mécanismes impliqués dans le contrôle de la fonction vasculaire lié au 25 (OH) D ne sont pas bien compris et sortent du cadre de l'étude.

Pour autant, plusieurs hypothèses peuvent être formulées : des différences de réponses à la VD selon les types de cellules vasculaires, des différentes quantités de VDR et / ou moins de contenu en 1-alpha hydroxylase, des rôles différents de la forme active de la VD et des VDR dans la régulation de la fonction cellulaire vasculaire et périvasculaire (Jamali et al., 2018). Le programme de perte de poids associé à la supplémentation en VD a entraîné une augmentation significative de la fonction microcirculatoire, avec une amélioration plus importante obtenue chez les AO ayant amélioré davantage leur statut en 25(OH)D. Une méta-analyse récente chez l'adulte (Beveridge et al., 2018), ayant inclus 3 études seulement sur la fonction microcirculatoire (Witham et al., 2013 ; Dreyer et al., 2014 ; Stricker et al., 2012) a montré un léger effet significatif d'une intervention basée uniquement sur une supplémentation en VD sur la fonction de microcirculation (SMD, 0.43; IC à 95%, 0.09–0.76;  $p = 0.01$ ). La signification clinique de ce résultat n'est pas claire.

En outre, l'amélioration de la microcirculation chez les AO peut être liée à une augmentation des taux de VD, mais également à une diminution du statut inflammatoire et de l'HOMA-IR. En fait, la supplémentation en VD pourrait avoir des effets anti-inflammatoires via la réduction de l'expression de molécules pro-inflammatoires (Zanetti et al., 2014), bien qu'une méta-analyse conduite auprès d'adultes obèses n'a pas révélé d'effet significatif de la supplémentation en VD sur les marqueurs inflammatoires (Jamka et al., 2016). En accord avec cela, nous n'avons pas trouvé de relation entre la diminution des valeurs de CRP et l'amélioration des réponses microvasculaires à l'ACh et SNP. Pour autant, l'augmentation de la réponse au SNP a été négativement corrélée à la diminution de l'indice HOMA-IR. Le rôle de la VD dans la régulation de la sensibilité à l'insuline a été mis en évidence (Teegarden et

Donkin, 2009). Cependant, Jamka et al (2015) n'ont trouvé aucun effet de la supplémentation en VD sur l'HOMA-IR chez l'adulte (Jamka et al., 2015). L'absence d'effet a également été rapportée chez les adolescents obèses (Nader et al., 2014). L'insulinorésistance a été reconnue capable de déclencher des effets hypo-hypertrophiques sur les cellules musculaires lisses vasculaires, conduisant au développement d'un dysfonctionnement vasculaire (de Jongh et al., 2008). Nous avons déjà rapporté une augmentation de la vasoréactivité en réponse à l'insuline après une prise en charge globale chez des adultes atteints du syndrome métabolique (Vinet et al., 2015). Cette modification de la vasoréactivité insulino-dépendante était en partie liée à des changements au niveau des marqueurs inflammatoires. Ainsi, nous pouvons supposer que la diminution de l'HOMA-IR chez les adolescents obèses pourrait améliorer la vasoréactivité insulino-dépendante et, par voie de conséquence, améliorer également la fonction microvasculaire.

Nos études présentent un certain nombre de limites, notamment la taille relativement faible des sujets qui rend difficile l'extrapolation. Deuxièmement, le facteur de l'intervention à l'origine des résultats observés reste incertain, dans la mesure où l'alimentation, l'exercice et la supplémentation en VD peuvent avoir un effet distinct ou synergique positif sur le taux en 25(OH)D. Il existe aussi une limite dans les dosages, car nous n'avons pas dosé la VD libre et la forme active de la vitamine D (Bikle et al., 2017). Cependant nous pouvons mettre en avant quelques points forts que sont le design de notre étude (randomisée en double aveugle versus placebo), le programme de correction de la déficience en VD conformément aux recommandations internationales (Saggese, 2018), la conformité à 100% en ayant les adolescents obèses hospitalisés autant que l'utilisation de techniques évaluant spécifiquement la fonction des systèmes macro- et microcirculatoire.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Ce travail de thèse a révélé que les adolescents obèses ont paradoxalement une réactivité microvasculaire supérieure aux adolescents normopondérés de même âge. Par ailleurs, les deux modalités d'entraînement (MCT et HIIT) ont engendré une diminution des ratios pic de perfusion/perfusion basale. Ces résultats confirment qu'il existe une fonction microvasculaire préservée voire supérieure chez les adolescents obèses non insulino-résistants par rapport aux adolescents sains, probablement expliquée par un phénomène compensatoire entre les substances vasoactives, et que l'entraînement aérobic quelle que soit la modalité produit des effets positifs au niveau du remodelage microvasculaire. Compte tenu du fait que la modalité d'entraînement par intervalles à haute intensité HIIT représente un coût énergétique par session d'entraînement inférieur à la modalité MCT tout en étant aussi efficace, HIIT pourrait s'avérer être une bonne alternative d'exercice applicable pour améliorer la composition corporelle, la condition aérobic, et constituer une stratégie pour le traitement de l'obésité infantile. Des travaux ultérieurs seront nécessaires pour tester l'acceptabilité par les enfants et adolescents de la modalité HIIT plus ludique dans le cadre de l'adoption d'un comportement bénéfique sur la santé à plus long terme.

De manière intéressante une prise en charge basée sur un programme de perte de poids en combinant nutrition et activité physique améliorent considérablement les facteurs cardiométaboliques (masse grasse, profils lipidiques, insulino-résistance, tension artérielle) et le statut en vitamine D des adolescents en état d'obésité, contribuerait à cette amélioration.

L'amélioration du statut en 25(OH)D, observée dans l'étude VIDADO interventionnelle de 3 mois, chez les adolescents obèses supplémentés et non, pourrait être expliquée par le relargage de la VD séquestrée dans le tissu adipeux et par une synthèse de VD due à une plus grande exposition au soleil lors des activités physiques pratiquées à l'extérieur par les

adolescents obèses. La supplémentation en VD de 4000 UI/jour s'est avérée efficace pour normaliser le statut en VD défini dans les politiques de santé publique en France.

La supplémentation en VD combinée à un programme de nutrition-activité physique n'a pas eu d'effet additionnel sur l'amélioration de la compliance artérielle carotidienne et la diminution de l'intima-média carotidienne. Par contre, cette diminution d'EIMc était plus marquée chez les adolescents obèses (déficients en VD à l'inclusion) qui augmentaient le plus leur taux de VD. En revanche, la supplémentation en VD combinée au programme nutrition-activité physique s'est avérée efficace pour améliorer la fonction microvasculaire chez les adolescents obèses présentant une dysfonction microvasculaire à l'inclusion.

La supplémentation en VD a été associée à une diminution de PTH. Le delta PTH était corrélé significativement à une réduction de la pression artérielle et de l'inflammation, ce qui suppose un effet bénéfique sur le système cardio-vasculaire. Cependant, la supplémentation en VD n'a eu aucun effet additionnel sur l'insulino-résistance par rapport au programme de réduction de poids.

Les travaux de cette thèse présentent des limites dues au nombre faible de sujets et le manque de données tel que le statut en vitamine D libre et en 1,25 dihydroxyVD, le métabolite bioactif de la VD. De nouvelles études avec davantage de sujets sont évidemment nécessaires pour confirmer l'effet vasculoprotecteur de la VD et mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de ces effets. Par ailleurs, des travaux utilisant des outils d'analyse métabolomique pourraient permettre de mieux évaluer les changements de signature métabolomique engendrés par la supplémentation en vitamine D chez les adolescents obèses adoptant un programme de perte de poids. Dans ce sens, les données de métabolomie de l'étude VIDADO sont en cours d'exploitation.

En termes de recommandations, les résultats de cette thèse sont prometteurs pour mettre en place des stratégies sur les modes de vie, dont l'intérêt de sessions d'activités physiques adaptées (HIIT), et de la supplémentation en VD. La dose de 4000 UI/ jour pourrait être une recommandation pour les enfants et adolescents obèses âgés dans le cas d'activités extérieures réduites et de faible ensoleillement. Cependant, des études sur les effets doses sont nécessaires pour établir la dose optimale de VD à administrer pour les fonctions phosphocalciques et extra-phosphocalciques.

# REFERENCES

- Aatola, H., Koivisto, T., Tuominen, H., Juonala, M., Lehtimäki, T., Viikari, J.S.A., Raitakari, O.T., Kähönen, M., and Hutri-Kähönen, N. (2017). Influence of Child and Adult Elevated Blood Pressure on Adult Arterial Stiffness: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 70, 531–536.
- Agarwal, C., Cohen, H.W., Muzumdar, R.H., Heptulla, R.A., Renukuntla, V.S., and Crandall, J. (2013). Obesity, hyperglycemia and endothelial function in inner city Bronx adolescents: a cross-sectional study. *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* 2013, 18.
- Aggoun, Y., Szezepanski, I., and Bonnet, D. (2005). Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events in children. *Pediatr. Res.* 58, 173–178.
- Aggoun, Y., Farpour-Lambert, N.J., Marchand, L.M., Golay, E., Maggio, A.B.R., and Beghetti, M. (2008a). Impaired endothelial and smooth muscle functions and arterial stiffness appear before puberty in obese children and are associated with elevated ambulatory blood pressure. *Eur. Heart J.* 29, 792–799.
- Aggoun, Y., Farpour-Lambert, N.J., Marchand, L.M., Golay, E., Maggio, A.B.R., and Beghetti, M. (2008b). Impaired endothelial and smooth muscle functions and arterial stiffness appear before puberty in obese children and are associated with elevated ambulatory blood pressure. *Eur. Heart J.* 29, 792–799.
- Akinci, G., Akinci, B., Coskun, S., Bayindir, P., Hekimsoy, Z., and Ozmen, B. (2008). Evaluation of markers of inflammation, insulin resistance and endothelial dysfunction in children at risk for overweight. *Horm. Athens Greece* 7, 156–162.
- Al Mheid, I., and Quyyumi, A.A. (2017). Vitamin D and Cardiovascular Disease: Controversy Unresolved. *J. Am. Coll. Cardiol.* 70, 89–100.
- Al Mheid, I., Patel, R., Murrow, J., Morris, A., Rahman, A., Fike, L., Kavtaradze, N., Uphoff, I., Hooper, C., Tangpricha, V., et al. (2011). Vitamin D status is associated with arterial stiffness and vascular dysfunction in healthy humans. *J. Am. Coll. Cardiol.* 58, 186–192.
- Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P., and Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc.* 23, 469–480.
- Alemzadeh, R., Kichler, J., Babar, G., and Calhoun, M. (2008a). Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism.* 57, 183–191.
- Alemzadeh, R., Kichler, J., Babar, G., and Calhoun, M. (2008b). Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism.* 57, 183–191.
- Al-Shorman, A., Al-Domi, H., and Al-Atoum, M. (2018). The associations of body composition and anthropometric measures with carotid intima-media thickness in obese and non-obese schoolchildren: A possible predictor for cardiovascular diseases. *Vascular* 26, 285–290.
- Alyami, A., Soares, M.J., Sherriff, J.L., and Mamo, J.C. (2014). Vitamin D & endothelial function. *Indian J. Med. Res.* 140, 483–490.

- Anderson, J.L., May, H.T., Horne, B.D., Bair, T.L., Hall, N.L., Carlquist, J.F., Lappé, D.L., Muhlestein, J.B., and Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group (2010). Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am. J. Cardiol.* *106*, 963–968.
- Anderson, T.J., Charbonneau, F., Title, L.M., Buithieu, J., Rose, M.S., Conradson, H., Hildebrand, K., Fung, M., Verma, S., and Lonn, E.M. (2011). Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation* *123*, 163–169.
- Araki, S., Dobashi, K., Yamamoto, Y., Asayama, K., and Kusuhara, K. (2010). Increased plasma isoprostane is associated with visceral fat, high molecular weight adiponectin, and metabolic complications in obese children. *Eur. J. Pediatr.* *169*, 965–970.
- Ashraf, A.P., Alvarez, J.A., Dudenbostel, T., Calhoun, D., Griffin, R., Wang, X., Hanks, L.J., and Gower, B.A. (2014). Associations between vascular health indices and serum total, free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in adolescents. *PloS One* *9*, e114689.
- Atabek, M.E., Eklioglu, B.S., Akyürek, N., and Alp, H. (2014). Association between vitamin D level and cardiovascular risk in obese children and adolescents. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* *27*, 661–666.
- Atkinson, H.C., Marsh, J.A., Rath, S.R., Kotecha, R.S., Gough, H., Taylor, M., Walwyn, T., Gottardo, N.G., Cole, C.H., and Choong, C.S. (2015). Increased Body Mass Index during Therapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Significant and Underestimated Complication. *Int. J. Pediatr.* *2015*, 386413.
- Avogaro, A., and de Kreutzenberg, S.V. (2005). Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* *360*, 9–26.
- Bandini, A., Orlandi, S., Manfredi, C., Evangelisti, A., Barrella, M., Bevilacqua, M., and Bocchi, L. (2013). Modelling of thermal hyperemia in the skin of type 2 diabetic patients. *J. Healthc. Eng.* *4*, 541–554.
- Barrett, E.J., and Liu, Z. (2013). The endothelial cell: an “early responder” in the development of insulin resistance. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* *14*, 21–27.
- Basdevant, A., Laville, M., Ziegler, O., Association Française d’Etudes et de Recherches sur l’Obésité (AFERO), Association de Langue Française pour l’Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques (ALFEDIAM), and Société de Nutrition et de Diététique de Langue Française (SNDLF) (2002). Recommendations for the diagnosis, the prevention and the treatment of obesity. *Diabetes Metab.* *28*, 146–150.
- Bass, R., and Eneli, I. (2015). Severe childhood obesity: an under-recognised and growing health problem. *Postgrad. Med. J.* *91*, 639–645.
- Bastard, J.-P., Maachi, M., Van Nhieu, J.T., Jardel, C., Bruckert, E., Grimaldi, A., Robert, J.-J., Capeau, J., and Hainque, B. (2002). Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *87*, 2084–2089.

- Bastard, J.-P., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M.J., Caron, M., Vidal, H., Capeau, J., and Feve, B. (2006). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur. Cytokine Netw.* 17, 4–12.
- Belenchia, A.M., Tosh, A.K., Hillman, L.S., and Peterson, C.A. (2013). Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 97, 774–781.
- Benhamou, C.L. (2008). [Vitamin D deficiency: preventive measures for this widespread health problem]. *Presse Medicale Paris Fr.* 137, 187–190.
- Beveridge, L.A., Khan, F., Struthers, A.D., Armitage, J., Barchetta, I., Bressendorff, I., Cavallo, M.G., Clarke, R., Dalan, R., Dreyer, G., et al. (2018a). Effect of Vitamin D Supplementation on Markers of Vascular Function: A Systematic Review and Individual Participant Meta-Analysis. *J. Am. Heart Assoc.* 7.
- Beveridge, L.A., Khan, F., Struthers, A.D., Armitage, J., Barchetta, I., Bressendorff, I., Cavallo, M.G., Clarke, R., Dalan, R., Dreyer, G., et al. (2018b). Effect of Vitamin D Supplementation on Markers of Vascular Function: A Systematic Review and Individual Participant Meta-Analysis. *J. Am. Heart Assoc.* 7.
- Bezrati, I., Hammami, R., Ben Fradj, M.K., Martone, D., Padulo, J., Feki, M., Chaouachi, A., and Kaabachi, N. (2016). Association of plasma 25-hydroxyvitamin D with physical performance in physically active children. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* 41, 1124–1128.
- Bhattacharjee, R., Alotaibi, W.H., Kheirandish-Gozal, L., Capdevila, O.S., and Gozal, D. (2010a). Endothelial dysfunction in obese non-hypertensive children without evidence of sleep disordered breathing. *BMC Pediatr.* 10, 8.
- Bhattacharjee, R., Alotaibi, W.H., Kheirandish-Gozal, L., Capdevila, O.S., and Gozal, D. (2010b). Endothelial dysfunction in obese non-hypertensive children without evidence of sleep disordered breathing. *BMC Pediatr.* 10, 8.
- Biancuzzo, R.M., Young, A., Bibuld, D., Cai, M.H., Winter, M.R., Klein, E.K., Ameri, A., Reitz, R., Salameh, W., Chen, T.C., et al. (2010a). Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 91, 1621–1626.
- Biancuzzo, R.M., Young, A., Bibuld, D., Cai, M.H., Winter, M.R., Klein, E.K., Ameri, A., Reitz, R., Salameh, W., Chen, T.C., et al. (2010b). Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 91, 1621–1626.
- Bikle, D., Bouillon, R., Thadhani, R., and Schoenmakers, I. (2017). Vitamin D metabolites in captivity? Should we measure free or total 25(OH)D to assess vitamin D status? *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 173, 105–116.
- Björntorp, P. (1997). Obesity. *Lancet Lond. Engl.* 350, 423–426.

- Bland, R., Markovic, D., Hills, C.E., Hughes, S.V., Chan, S.L.F., Squires, P.E., and Hewison, M. (2004). Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 $\alpha$ -hydroxylase in pancreatic islets. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 89–90, 121–125.
- Boiché, J., Gourlan, M., Trouilloud, D., and Sarrazin, P. (2016). Development and validation of the “Echelle de Motivation envers l’Activité Physique en contexte de Santé”: A motivation scale towards health-oriented physical activity in French. *J. Health Psychol.* 1359105316676626.
- Boonchaya-anant, P., Holick, M.F., and Apovian, C.M. (2014). Serum 25-hydroxyvitamin D levels and metabolic health status in extremely obese individuals. *Obes. Silver Spring Md* 22, 2539–2543.
- Borg, G.A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.* 14, 377–381.
- Bouloumie, A., Marumo, T., Lafontan, M., and Busse, R. (1999). Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 13, 1231–1238.
- Braegger, C., Campoy, C., Colomb, V., Decsi, T., Domellof, M., Fewtrell, M., Hojsak, I., Mihatsch, W., Molgaard, C., Shamir, R., et al. (2013). Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 56, 692–701.
- Brandou, F., Savy-Pacaux, A.M., Marie, J., Bauloz, M., Maret-Fleuret, I., Borrocoso, S., Mercier, J., and Brun, J.F. (2005a). Impact of high- and low-intensity targeted exercise training on the type of substrate utilization in obese boys submitted to a hypocaloric diet. *Diabetes Metab.* 31, 327–335.
- Brandou, F., Savy-Pacaux, A.M., Marie, J., Bauloz, M., Maret-Fleuret, I., Borrocoso, S., Mercier, J., and Brun, J.F. (2005b). Impact of high- and low-intensity targeted exercise training on the type of substrate utilization in obese boys submitted to a hypocaloric diet. *Diabetes Metab.* 31, 327–335.
- Brar, P.C., Patel, P., and Katz, S. (2017). The relationship between insulin resistance and endothelial dysfunction in obese adolescents. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* 30, 635–642.
- Brewer, L.C., Michos, E.D., and Reis, J.P. (2011). Vitamin D in atherosclerosis, vascular disease, and endothelial function. *Curr. Drug Targets* 12, 54–60.
- Briers, D., Duncan, D.D., Hirst, E., Kirkpatrick, S.J., Larsson, M., Steenbergen, W., Stromberg, T., and Thompson, O.B. (2013). Laser speckle contrast imaging: theoretical and practical limitations. *J. Biomed. Opt.* 18, 066018.
- Bruyndonckx, L., Hoymans, V.Y., De Guchteneere, A., Van Helvoirt, M., Van Craenenbroeck, E.M., Frederix, G., Lemmens, K., Vissers, D.K., Vrints, C.J., Ramet, J., et al. (2015). Diet, exercise, and endothelial function in obese adolescents. *Pediatrics* 135, e653–661.
- Bruyndonckx, L., Hoymans, V.Y., Lemmens, K., Ramet, J., and Vrints, C.J. (2016). Childhood obesity-related endothelial dysfunction: an update on pathophysiological mechanisms and diagnostic advancements. *Pediatr. Res.* 79, 831–837.

- Bulló, M., García-Lorda, P., Megias, I., and Salas-Salvadó, J. (2003). Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes. Res.* *11*, 525–531.
- Burns, S.F., Lee, S., Bacha, F., Tfayli, H., Hannon, T.S., and Arslanian, S.A. (2014). Pre-diabetes in overweight youth and early atherogenic risk. *Metabolism.* *63*, 1528–1535.
- Campos, R.M., Masquío, D.C., Corgosinho, F.C., Carvalho-Ferreira, J.P., Netto, B.D., Ackel-D'Elia, C., Tock, L., Tufik, S., de Mello, M.T., and Damaso, A.R. (2015). Low vitamin D intake is associated with increase in cardiovascular risk factors in obese adolescents. *Endocr. Regul.* *49*, 11–19.
- Cannell, J.J., Hollis, B.W., Sorenson, M.B., Taft, T.N., and Anderson, J.J.B. (2009). Athletic performance and vitamin D. *Med. Sci. Sports Exerc.* *41*, 1102–1110.
- Caprio, S., Bronson, M., Sherwin, R.S., Rife, F., and Tamborlane, W. V (1996). Co-existence of severe insulin resistance and hyperinsulinaemia in pre-adolescent obese children. *Diabetologia* *39*, 1489–1497.
- Carlberg, C., and Seuter, S. (2009). A genomic perspective on vitamin D signaling. *Anticancer Res.* *29*, 3485–3493.
- Carmo-Silva, S., and Cavadas, C. (2017). Hypothalamic Dysfunction in Obesity and Metabolic Disorders. *Adv. Neurobiol.* *19*, 73–116.
- Carpentier, A., Pataky, Z., Bobbioni-Harsch, E., and Golay, A. (2013). [Micronutrient deficiency in obesity]. *Rev. Med. Suisse* *9*, 664, 666–669.
- Carrillo, A.E., Flynn, M.G., Pinkston, C., Markofski, M.M., Jiang, Y., Donkin, S.S., and Teegarden, D. (2013). Impact of vitamin D supplementation during a resistance training intervention on body composition, muscle function, and glucose tolerance in overweight and obese adults. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.* *32*, 375–381.
- Carter, H.H., Dawson, E.A., Birk, G.K., Spence, A.L., Naylor, L.H., Cable, N.T., Thijssen, D.H.J., and Green, D.J. (2013). Effect of SR manipulation on conduit artery dilation in humans. *Hypertens. Dallas Tex* *1979* *61*, 143–150.
- Castetbon, K., Vernay, M., Malon, A., Salanave, B., Deschamps, V., Roudier, C., Oleko, A., Szego, E., and Hercberg, S. (2009). Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006-2007). *Br. J. Nutr.* *102*, 733–743.
- Cediel, G., Corvalán, C., López de Romaña, D., Mericq, V., and Uauy, R. (2016). Prepubertal Adiposity, Vitamin D Status, and Insulin Resistance. *Pediatrics* *138*.
- Censani, M., Hammad, H.T., Christos, P.J., and Schumaker, T. (2018). Vitamin D Deficiency Associated With Markers of Cardiovascular Disease in Children With Obesity. *Glob. Pediatr. Health* *5*, 2333794X17751773.
- Challa, A.S., Makariou, S.E., and Siomou, E.C. (2015). The relation of vitamin D status with metabolic syndrome in childhood and adolescence: an update. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* *28*, 1235–1245.

- Charakida, M., Jones, A., Falaschetti, E., Khan, T., Finer, N., Sattar, N., Hingorani, A., Lawlor, D.A., Smith, G.D., and Deanfield, J.E. (2012a). Childhood obesity and vascular phenotypes: a population study. *J. Am. Coll. Cardiol.* *60*, 2643–2650.
- Charakida, M., Jones, A., Falaschetti, E., Khan, T., Finer, N., Sattar, N., Hingorani, A., Lawlor, D.A., Smith, G.D., and Deanfield, J.E. (2012b). Childhood obesity and vascular phenotypes: a population study. *J. Am. Coll. Cardiol.* *60*, 2643–2650.
- Chatrath, R., Ronningen, K.L., Severson, S.R., LaBreche, P., Jayachandran, M., Bracamonte, M.P., and Miller, V.M. (2003). Endothelium-dependent responses in coronary arteries are changed with puberty in male pigs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *285*, H1168-1176.
- Chen, L., Chen, R., Wang, H., and Liang, F. (2015). Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *Int. J. Endocrinol.* *2015*.
- Chiarelli, F., and Marcovecchio, M.L. (2008). Insulin resistance and obesity in childhood. *Eur. J. Endocrinol.* *159 Suppl 1*, S67-74.
- Chin, L.C., Huang, T.Y., Yu, C.L., Wu, C.H., Hsu, C.C., and Yu, H.S. (1999a). Increased cutaneous blood flow but impaired post-ischemic response of nutritional flow in obese children. *Atherosclerosis* *146*, 179–185.
- Chin, L.C., Huang, T.Y., Yu, C.L., Wu, C.H., Hsu, C.C., and Yu, H.S. (1999b). Increased cutaneous blood flow but impaired post-ischemic response of nutritional flow in obese children. *Atherosclerosis* *146*, 179–185.
- Chuensiri, N., Suksom, D., and Tanaka, H. (2018). Effects of High-Intensity Intermittent Training on Vascular Function in Obese Preadolescent Boys. *Child. Obes. Print* *14*, 41–49.
- Ciccone, M.M., Miniello, V., Marchioli, R., Scicchitano, P., Cortese, F., Palumbo, V., Primitivo, S.G., Sassara, M., Ricci, G., Carbonara, S., et al. (2011). Morphological and functional vascular changes induced by childhood obesity. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil. Off. J. Eur. Soc. Cardiol. Work. Groups Epidemiol. Prev. Card. Rehabil. Exerc. Physiol.* *18*, 831–835.
- Cipriani, C., Pepe, J., Piemonte, S., Colangelo, L., Cilli, M., and Minisola, S. (2014). Vitamin d and its relationship with obesity and muscle. *Int. J. Endocrinol.* *2014*, 841248.
- Clark, M.G. (2008). Impaired microvascular perfusion: a consequence of vascular dysfunction and a potential cause of insulin resistance in muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *295*, E732-750.
- Clough, G.F., and Norman, M. (2011). The microcirculation: a target for developmental priming. *Microcirc. N. Y. N 1994* *18*, 286–297.
- Codoñer-Franch, P., Murria-Estal, R., Tortajada-Girbés, M., del Castillo-Villaescusa, C., Valls-Bellés, V., and Alonso-Iglesias, E. (2010). New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. *Nutr. Hosp.* *25*, 845–851.
- Codoñer-Franch, P., Tavárez-Alonso, S., Murria-Estal, R., Megías-Vericat, J., Tortajada-Girbés, M., and Alonso-Iglesias, E. (2011). Nitric oxide production is increased in severely

obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Atherosclerosis* 215, 475–480.

Codoñer-Franch, P., Tavárez-Alonso, S., Simó-Jordá, R., Laporta-Martín, P., Carratalá-Calvo, A., and Alonso-Iglesias, E. (2012a). Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. *J. Pediatr.* 161, 848–854.

Codoñer-Franch, P., Navarro-Ruiz, A., Fernández-Ferri, M., Arilla-Codoñer, Á., Ballester-Asensio, E., and Valls-Bellés, V. (2012b). A matter of fat: insulin resistance and oxidative stress. *Pediatr. Diabetes* 13, 392–399.

Codoñer-Franch, P., Tavárez-Alonso, S., Simó-Jordá, R., Laporta-Martín, P., Carratalá-Calvo, A., and Alonso-Iglesias, E. (2012c). Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. *J. Pediatr.* 161, 848–854.

Codoñer-Franch, P., Tavárez-Alonso, S., Simó-Jordá, R., Laporta-Martín, P., Carratalá-Calvo, A., and Alonso-Iglesias, E. (2012d). Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. *J. Pediatr.* 161, 848–854.

Colotta, F., Jansson, B., and Bonelli, F. (2017). Modulation of inflammatory and immune responses by vitamin D. *J. Autoimmun.*

Coquart, J.B.J., Lemaire, C., Dubart, A.-E., Luttenbacher, D.-P., Douillard, C., and Garcin, M. (2008). Intermittent versus continuous exercise: effects of perceptually lower exercise in obese women. *Med. Sci. Sports Exerc.* 40, 1546–1553.

Corretti, M. (2004). Brachial artery reactivity: clinical tool or research toy? *J. Am. Soc. Echocardiogr. Off. Publ. Am. Soc. Echocardiogr.* 17, 693–696.

Corretti, M.C., Anderson, T.J., Benjamin, E.J., Celermajer, D., Charbonneau, F., Creager, M.A., Deanfield, J., Drexler, H., Gerhard-Herman, M., Herrington, D., et al. (2002). Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol.* 39, 257–265.

Corte de Araujo, A.C., Roschel, H., Picanço, A.R., do Prado, D.M.L., Villares, S.M.F., de Sá Pinto, A.L., and Gualano, B. (2012). Similar health benefits of endurance and high-intensity interval training in obese children. *PloS One* 7, e42747.

Cote, A.T., Harris, K.C., Panagiotopoulos, C., Sandor, G.G.S., and Devlin, A.M. (2013). Childhood obesity and cardiovascular dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 62, 1309–1319.

Cote, A.T., Phillips, A.A., Harris, K.C., Sandor, G.G.S., Panagiotopoulos, C., and Devlin, A.M. (2015). Obesity and arterial stiffness in children: systematic review and meta-analysis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35, 1038–1044.

Cracowski, J.-L., and Roustit, M. (2016). Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An Updated Focus on Laser-Based-Techniques. *Microcirc. N. Y. N* 1994 23, 337–344.

Cracowski, J.-L., Minson, C.T., Salvat-Melis, M., and Halliwill, J.R. (2006). Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* 27, 503–508.

- Csongrádi, É., Káplár, M., Nagy, B., Koch, C.A., Juhász, A., Bajnok, L., Varga, Z., Seres, I., Karányi, Z., Magyar, M.T., et al. (2017). Adipokines as atherothrombotic risk factors in obese subjects: Associations with haemostatic markers and common carotid wall thickness. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. NMCD* 27, 571–580.
- Czernichow, P., and Tubiana-Rufi, N. (2004). [Emergence of type 2 diabetes in French children]. *Bull. Acad. Natl. Med.* 188, 1443–1451; discussion 1451-1453.
- Davignon, J., and Ganz, P. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 109, III27-32.
- Davis, P.H., Dawson, J.D., Riley, W.A., and Lauer, R.M. (2001). Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation* 104, 2815–2819.
- Dawson-Hughes, B. (2013). What is the optimal dietary intake of vitamin D for reducing fracture risk? *Calcif. Tissue Int.* 92, 184–190.
- De Saint Pol Thibault, (2007) « L'obésité en France : les écarts entre catégories sociales s'accroissent », *Insee Première*, n°1123, Février 2007, p.2.
- Delarue, J., and Magnan, C. (2007). Free fatty acids and insulin resistance. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 10, 142–148.
- Delpy, E., Coste, H., and Gouville, A.C. (1996). Effects of cyclic GMP elevation on isoprenaline-induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle: role of phosphodiesterase 3. *Br. J. Pharmacol.* 119, 471–478.
- Delvin, E.E., Lambert, M., Levy, E., O'Loughlin, J., Mark, S., Gray-Donald, K., and Paradis, G. (2010). Vitamin D status is modestly associated with glycemia and indicators of lipid metabolism in French-Canadian children and adolescents. *J. Nutr.* 140, 987–991.
- Dengel, D.R., and Ryder, J.R. (2017). Impact of Health Status and Lifestyle Modifications on Vascular Structure and Function in Children and Adolescents. *Am. J. Lifestyle Med.* 11, 330–343.
- Després, J.P. (2001). Health consequences of visceral obesity. *Ann. Med.* 33, 534–541.
- Dias, K.A., Green, D.J., Ingul, C.B., Pavey, T.G., and Coombes, J.S. (2015). Exercise and Vascular Function in Child Obesity: A Meta-Analysis. *Pediatrics* 136, e648-659.
- Dinenno, F.A., Tanaka, H., Monahan, K.D., Clevenger, C.M., Eskurza, I., DeSouza, C.A., and Seals, D.R. (2001). Regular endurance exercise induces expansive arterial remodelling in the trained limbs of healthy men. *J. Physiol.* 534, 287–295.
- Doyon, A., Kracht, D., Bayazit, A.K., Deveci, M., Duzova, A., Krmar, R.T., Litwin, M., Niemirska, A., Oguz, B., Schmidt, B.M.W., et al. (2013). Carotid artery intima-media thickness and distensibility in children and adolescents: reference values and role of body dimensions. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 62, 550–556.
- Dreyer, G., Tucker, A.T., Harwood, S.M., Pearse, R.M., Raftery, M.J., and Yaqoob, M.M. (2014). Ergocalciferol and microcirculatory function in chronic kidney disease and concomitant

- vitamin d deficiency: an exploratory, double blind, randomised controlled trial. *PloS One* 9, e99461.
- Drincic, A.T., Armas, L.A.G., Van Diest, E.E., and Heaney, R.P. (2012). Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obes. Silver Spring Md* 20, 1444–1448.
- Duclos, M., Oppert, J.-M., Verges, B., Coliche, V., Gautier, J.-F., Guezennec, Y., Reach, G., Strauch, G., and SFD diabetes and physical activity working group (2013). Physical activity and type 2 diabetes. Recommendations of the SFD (Francophone Diabetes Society) diabetes and physical activity working group. *Diabetes Metab.* 39, 205–216.
- Duerrschmidt, N., Stielow, C., Muller, G., Pagano, P.J., and Morawietz, H. (2006). NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells. *J. Physiol.* 576, 557–567.
- Dusso, A.S., Brown, A.J., and Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 289, F8-28.
- Dwyer, T., Sun, C., Magnussen, C.G., Raitakari, O.T., Schork, N.J., Venn, A., Burns, T.L., Juonala, M., Steinberger, J., Sinaiko, A.R., et al. (2013). Cohort Profile: the international childhood cardiovascular cohort (i3C) consortium. *Int. J. Epidemiol.* 42, 86–96.
- El-Hajj Fuleihan, G., Nabulsi, M., Tamim, H., Maalouf, J., Salamoun, M., Khalife, H., Choucair, M., Arabi, A., and Vieth, R. (2006). Effect of vitamin D replacement on musculoskeletal parameters in school children: a randomized controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 405–412.
- Ertek, S., Akgül, E., Cicero, A.F., Kütük, U., Demirtaş, S., Cehreli, S., and Erdoğan, G. (2012). 25-Hydroxy vitamin D levels and endothelial vasodilator function in normotensive women. *Arch. Med. Sci. AMS* 8, 47–52.
- Faucher, P., and Poitou, C. (2016). [Physiopathology, causes and complications of obesity]. *Soins Rev. Ref. Infirm.* 61, 20–25.
- Fischer, P.R., Thacher, T.D., and Pettifor, J.M. (2008). Pediatric vitamin D and calcium nutrition in developing countries. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 9, 181–192.
- Flammer, A.J., Anderson, T., Celermajer, D.S., Creager, M.A., Deanfield, J., Ganz, P., Hamburg, N.M., Lüscher, T.F., Shechter, M., Taddei, S., et al. (2012). The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* 126, 753–767.
- Flegal, K.M., Wei, R., Ogden, C.L., Freedman, D.S., Johnson, C.L., and Curtin, L.R. (2009). Characterizing extreme values of body mass index-for-age by using the 2000 Centers for Disease Control and Prevention growth charts. *Am. J. Clin. Nutr.* 90, 1314–1320.
- Flynn, J.T., Kaelber, D.C., Baker-Smith, C.M., Blowey, D., Carroll, A.E., Daniels, S.R., de Ferranti, S.D., Dionne, J.M., Falkner, B., Flinn, S.K., et al. (2017). Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics*.

- Fraser, D.R., and Kodicek, E. (1970). Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature* *228*, 764–766.
- Freedman, D.S., Mei, Z., Srinivasan, S.R., Berenson, G.S., and Dietz, W.H. (2007). Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *J. Pediatr.* *150*, 12-17.e2.
- Fu, J., Han, L., Zhao, Y., Li, G., Zhu, Y., Li, Y., Li, M., Gao, S., and Willi, S.M. (2018). Vitamin D levels are associated with metabolic syndrome in adolescents and young adults: The BCAMS study. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.*
- Furchgott, R.F., and Vanhoutte, P.M. (1989a). Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *3*, 2007–2018.
- Furchgott, R.F., and Vanhoutte, P.M. (1989b). Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *3*, 2007–2018.
- Gangloff, A., Bergeron, J., Pelletier-Beaumont, E., Nazare, J.A., Smith, J., Borel, A.L., Lemieux, I., Tremblay, A., Poirier, P., Alméras, N., et al. (2015). Effect of adipose tissue volume loss on circulating 25-hydroxyvitamin D levels: results from a 1-year lifestyle intervention in viscerally obese men. *Int. J. Obes.* *2005* *39*, 1638–1643.
- Gangloff, A., Bergeron, J., Lemieux, I., and Després, J.-P. (2016). Changes in circulating vitamin D levels with loss of adipose tissue. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* *19*, 464–470.
- Ganji, V., Zhang, X., Shaikh, N., and Tangpricha, V. (2011a). Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with prevalence of metabolic syndrome and various cardiometabolic risk factors in US children and adolescents based on assay-adjusted serum 25-hydroxyvitamin D data from NHANES 2001-2006. *Am. J. Clin. Nutr.* *94*, 225–233.
- Ganji, V., Zhang, X., Shaikh, N., and Tangpricha, V. (2011b). Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with prevalence of metabolic syndrome and various cardiometabolic risk factors in US children and adolescents based on assay-adjusted serum 25-hydroxyvitamin D data from NHANES 2001-2006. *Am. J. Clin. Nutr.* *94*, 225–233.
- García-Hermoso, A., Cerrillo-Urbina, A.J., Herrera-Valenzuela, T., Cristi-Montero, C., Saavedra, J.M., and Martínez-Vizcaíno, V. (2016). Is high-intensity interval training more effective on improving cardiometabolic risk and aerobic capacity than other forms of exercise in overweight and obese youth? A meta-analysis. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *17*, 531–540.
- García-Hermoso, A., González-Ruiz, K., Triana-Reina, H.R., Olloquequi, J., and Ramírez-Vélez, R. (2017). Effects of Exercise on Carotid Arterial Wall Thickness in Obese Pediatric Populations: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Child. Obes. Print* *13*, 138–145.
- Garland, C.J., Hiley, C.R., and Dora, K.A. (2011). EDHF: spreading the influence of the endothelium. *Br. J. Pharmacol.* *164*, 839–852.
- Garland, C.J., Bagher, P., Powell, C., Ye, X., Lemmey, H.A.L., Borysova, L., and Dora, K.A. (2017). Voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> entry into smooth muscle during contraction promotes endothelium-mediated feedback vasodilation in arterioles. *Sci. Signal.* *10*.

- Giordano, P., Del Vecchio, G.C., Cecinati, V., Delvecchio, M., Altomare, M., De Palma, F., De Mattia, D., Cavallo, L., and Faienza, M.F. (2011). Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. *Eur. J. Pediatr.* *170*, 845–850.
- Golbidi, S., and Laher, I. (2013). Exercise and the aging endothelium. *J. Diabetes Res.* *2013*, 789607.
- Goncalves, A., Gleize, B., Bott, R., Nowicki, M., Amiot, M.-J., Lairon, D., Borel, P., and Reboul, E. (2011). Phytosterols can impair vitamin D intestinal absorption in vitro and in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* *55 Suppl 2*, S303-311.
- Goncalves, A., Gleize, B., Roi, S., Nowicki, M., Dhaussy, A., Huertas, A., Amiot, M.-J., and Reboul, E. (2013). Fatty acids affect micellar properties and modulate vitamin D uptake and basolateral efflux in Caco-2 cells. *J. Nutr. Biochem.* *24*, 1751–1757.
- Goncalves, A., Roi, S., Nowicki, M., Dhaussy, A., Huertas, A., Amiot, M.-J., and Reboul, E. (2015). Fat-soluble vitamin intestinal absorption: absorption sites in the intestine and interactions for absorption. *Food Chem.* *172*, 155–160.
- González-Gross, M., Valtueña, J., Breidenassel, C., Moreno, L.A., Ferrari, M., Kersting, M., De Henauw, S., Gottrand, F., Azzini, E., Widhalm, K., et al. (2012). Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *Br. J. Nutr.* *107*, 755–764.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.-A., Hu, F.B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R.J.F., Moreno, L.A., Bray, G.A., and Martínez, J.A. (2017). Obesity. *Nat. Rev. Dis. Primer* *3*, 17034.
- Green, D.J., Maiorana, A., O’Driscoll, G., and Taylor, R. (2004). Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J. Physiol.* *561*, 1–25.
- Gregor, M.F., and Hotamisligil, G.S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu. Rev. Immunol.* *29*, 415–445.
- Gruber, H.-J., Mayer, C., Mangge, H., Fauler, G., Grandits, N., and Wilders-Truschig, M. (2008). Obesity reduces the bioavailability of nitric oxide in juveniles. *Int. J. Obes.* *2005* *32*, 826–831.
- Guillot, X., Semerano, L., Saidenberg-Kermanac’h, N., Falgarone, G., and Boissier, M.-C. (2010). Vitamin D and inflammation. *Jt. Bone Spine Rev. Rhum.* *77*, 552–557.
- Gutiérrez Medina, S., Gavela-Pérez, T., Domínguez-Garrido, M.N., Gutiérrez-Moreno, E., Rovira, A., Garcés, C., and Soriano-Guillén, L. (2015). The influence of puberty on vitamin D status in obese children and the possible relation between vitamin D deficiency and insulin resistance. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* *28*, 105–110.
- Güven, A., and Sanisoglu, S.Y. (2008). Pubertal progression and serum lipid profile in obese children. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* *21*, 135–146.
- Hanley, D.A., Cranney, A., Jones, G., Whiting, S.J., Leslie, W.D., Cole, D.E.C., Atkinson, S.A., Josse, R.G., Feldman, S., Kline, G.A., et al. (2010). Vitamin D in adult health and disease: a

review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ Can. Med. Assoc. J. J. Assoc. Medicale Can.* 182, E610-618.

Hedvall Kallerman, P., Hagman, E., Edstedt Bonamy, A.-K., Zemack, H., Marcus, C., Norman, M., and Westerståhl, M. (2014). Obese children without comorbidities have impaired microvascular endothelial function. *Acta Paediatr. Oslo Nor.* 1992 103, 411–417.

de las Heras, J., Rajakumar, K., Lee, S., Bacha, F., Holick, M.F., and Arslanian, S.A. (2013). 25-Hydroxyvitamin D in obese youth across the spectrum of glucose tolerance from normal to prediabetes to type 2 diabetes. *Diabetes Care* 36, 2048–2053.

Hill, J.O., Wyatt, H.R., Reed, G.W., and Peters, J.C. (2003). Obesity and the environment: where do we go from here? *Science* 299, 853–855.

Hoier, B., and Hellsten, Y. (2014). Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirc. N. Y. N* 1994 21, 301–314.

Holick, M.F. (2003). Vitamin D: A millenium perspective. *J. Cell. Biochem.* 88, 296–307.

Holick, M.F. (2011). VITAMIN D: A D-LIGHTFUL SOLUTION FOR HEALTH. *J. Investig. Med. Off. Publ. Am. Fed. Clin. Res.* 59, 872–880.

Holick, M.F. (2017). The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 18, 153–165.

Holick, M.F., Chen, T.C., Lu, Z., and Sauter, E. (2007). Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 22 *Suppl* 2, V28-33.

Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P., Murad, M.H., Weaver, C.M., and Endocrine Society (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, 1911–1930.

Hollis, B.W. (2005). Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J. Nutr.* 135, 317–322.

Holowatz, L.A., Thompson-Torgerson, C.S., and Kenney, W.L. (2008). The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 105, 370–372.

Horner, K., Kuk, J.L., Barinas-Mitchell, E., Drant, S., DeGross, C., and Lee, S. (2015). Effect of Aerobic versus Resistance Exercise on Pulse Wave Velocity, Intima Media Thickness and Left Ventricular Mass in Obese Adolescents. *Pediatr. Exerc. Sci.* 27, 494–502.

Hosseini-nezhad, A., and Holick, M.F. (2013). Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin. Proc.* 88, 720–755.

Humeau-Heurtier, A., Guerreschi, E., Abraham, P., and Mahé, G. (2013). Relevance of laser Doppler and laser speckle techniques for assessing vascular function: state of the art and future trends. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 60, 659–666.

- Iannuzzi, A., Licenziati, M.R., Acampora, C., Salvatore, V., Auriemma, L., Romano, M.L., Panico, S., Rubba, P., and Trevisan, M. (2004). Increased carotid intima-media thickness and stiffness in obese children. *Diabetes Care* 27, 2506–2508.
- Jamali, N., Sorenson, C.M., and Sheibani, N. (2018). Vitamin D and regulation of vascular cell function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 314, H753–H765.
- Jamka, M., Woźniewicz, M., Jeszka, J., Mardas, M., Bogdański, P., and Stelmach-Mardas, M. (2015a). The effect of vitamin D supplementation on insulin and glucose metabolism in overweight and obese individuals: systematic review with meta-analysis. *Sci. Rep.* 5, 16142.
- Jamka, M., Woźniewicz, M., Jeszka, J., Mardas, M., Bogdański, P., and Stelmach-Mardas, M. (2015b). The effect of vitamin D supplementation on insulin and glucose metabolism in overweight and obese individuals: systematic review with meta-analysis. *Sci. Rep.* 5, 16142.
- Jamka, M., Woźniewicz, M., Walkowiak, J., Bogdański, P., Jeszka, J., and Stelmach-Mardas, M. (2016). The effect of vitamin D supplementation on selected inflammatory biomarkers in obese and overweight subjects: a systematic review with meta-analysis. *Eur. J. Nutr.* 55, 2163–2176.
- Jassil, N.K., Sharma, A., Bikle, D., and Wang, X. (2017). VITAMIN D BINDING PROTEIN AND 25-HYDROXYVITAMIN D LEVELS: EMERGING CLINICAL APPLICATIONS. *Endocr. Pract. Off. J. Am. Coll. Endocrinol. Am. Assoc. Clin. Endocrinol.* 23, 605–613.
- Javed, A., Kullo, I.J., Balagopal, P.B., and Kumar, S. (2015a). Effect of vitamin D3 treatment on endothelial function in obese adolescents. *Pediatr. Obes.*
- Javed, A., Vella, A., Balagopal, P.B., Fischer, P.R., Weaver, A.L., Piccinini, F., Dalla Man, C., Cobelli, C., Giesler, P.D., Laugen, J.M., et al. (2015b). Cholecalciferol supplementation does not influence  $\beta$ -cell function and insulin action in obese adolescents: a prospective double-blind randomized trial. *J. Nutr.* 145, 284–290.
- Javed, A., Kullo, I.J., Balagopal, P.B., and Kumar, S. (2016). Effect of vitamin D3 treatment on endothelial function in obese adolescents. *Pediatr. Obes.* 11, 279–284.
- de Jongh, R.T., Serné, E.H., IJzerman, R.G., Jørstad, H.T., and Stehouwer, C.D.A. (2008). Impaired local microvascular vasodilatory effects of insulin and reduced skin microvascular vasomotion in obese women. *Microvasc. Res.* 75, 256–262.
- Joshi, S.M., Katre, P.A., Kumaran, K., Joglekar, C., Osmond, C., Bhat, D.S., Lubree, H., Pandit, A., Yajnik, C.S., and Fall, C.H.D. (2014). Tracking of cardiovascular risk factors from childhood to young adulthood - The Pune Children's Study. *Int. J. Cardiol.* 175, 176–178.
- Judd, S.E., Nanes, M.S., Ziegler, T.R., Wilson, P.W.F., and Tangpricha, V. (2008). Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 136–141.
- Juhola, J., Magnussen, C.G., Berenson, G.S., Venn, A., Burns, T.L., Sabin, M.A., Srinivasan, S.R., Daniels, S.R., Davis, P.H., Chen, W., et al. (2013). Combined effects of child and adult elevated blood pressure on subclinical atherosclerosis: the International Childhood Cardiovascular Cohort Consortium. *Circulation* 128, 217–224.

- Juonala, M., Viikari, J.S.A., and Raitakari, O.T. (2013). Main findings from the prospective Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Curr. Opin. Lipidol.* *24*, 57–64.
- Juonala, M., Voipio, A., Pahkala, K., Viikari, J.S.A., Mikkilä, V., Kähönen, M., Hutri-Kähönen, N., Jula, A., Burgner, D., Sabin, M.A., et al. (2015). Childhood 25-OH vitamin D levels and carotid intima-media thickness in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *100*, 1469–1476.
- Kamycheva, E., Jorde, R., Figenschau, Y., and Haug, E. (2007). Insulin sensitivity in subjects with secondary hyperparathyroidism and the effect of a low serum 25-hydroxyvitamin D level on insulin sensitivity. *J. Endocrinol. Invest.* *30*, 126–132.
- Kapiotis, S., Holzer, G., Schaller, G., Haumer, M., Widhalm, H., Weghuber, D., Jilma, B., Röggl, G., Wolzt, M., Widhalm, K., et al. (2006). A proinflammatory state is detectable in obese children and is accompanied by functional and morphological vascular changes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *26*, 2541–2546.
- Karaca, Ü., Schram, M.T., Houben, A.J.H.M., Muris, D.M.J., and Stehouwer, C.D.A. (2014). Microvascular dysfunction as a link between obesity, insulin resistance and hypertension. *Diabetes Res. Clin. Pract.* *103*, 382–387.
- Kardas, F., Kendirci, M., and Kurtoglu, S. (2013). Cardiometabolic risk factors related to vitamin d and adiponectin in obese children and adolescents. *Int. J. Endocrinol.* *2013*, 503270.
- Karpoff, L., Vinet, A., Schuster, I., Oudot, C., Goret, L., Dauzat, M., Obert, P., and Perez-Martin, A. (2009a). Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *Eur. J. Clin. Invest.* *39*, 94–102.
- Karpoff, L., Vinet, A., Schuster, I., Oudot, C., Goret, L., Dauzat, M., Obert, P., and Perez-Martin, A. (2009b). Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *Eur. J. Clin. Invest.* *39*, 94–102.
- Karpoff, L., Vinet, A., Schuster, I., Oudot, C., Goret, L., Dauzat, M., Obert, P., and Perez-Martin, A. (2009c). Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *Eur. J. Clin. Invest.* *39*, 94–102.
- Katz, A., Nambi, S.S., Mather, K., Baron, A.D., Follmann, D.A., Sullivan, G., and Quon, M.J. (2000). Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *85*, 2402–2410.
- Kavey, R.-E.W., Daniels, S.R., Lauer, R.M., Atkins, D.L., Hayman, L.L., Taubert, K., and American Heart Association (2003). American Heart Association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Circulation* *107*, 1562–1566.
- Kayaniyil, S., Vieth, R., Retnakaran, R., Knight, J.A., Qi, Y., Gerstein, H.C., Perkins, B.A., Harris, S.B., Zinman, B., and Hanley, A.J. (2010). Association of vitamin D with insulin resistance and beta-cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Care* *33*, 1379–1381.
- Keaney, J.F., Larson, M.G., Vasan, R.S., Wilson, P.W.F., Lipinska, I., Corey, D., Massaro, J.M., Sutherland, P., Vita, J.A., Benjamin, E.J., et al. (2003). Obesity and systemic oxidative

- stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 434–439.
- Keeseey, R.E., and Hirvonen, M.D. (1997). Body weight set-points: determination and adjustment. *J. Nutr.* 127, 1875S-1883S.
- Keskin, M., Kurtoglu, S., Kendirci, M., Atabek, M.E., and Yazici, C. (2005). Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics* 115, e500-3.
- Khan, F., Green, F.C., Forsyth, J.S., Greene, S.A., Morris, A.D., and Belch, J.J.F. (2003). Impaired microvascular function in normal children: effects of adiposity and poor glucose handling. *J. Physiol.* 551, 705–711.
- Kim, S.H., and Reaven, G.M. (2004). The metabolic syndrome: one step forward, two steps back. *Diab. Vasc. Dis. Res.* 1, 68–75.
- Kingwell, B.A., Cameron, J.D., Gillies, K.J., Jennings, G.L., and Dart, A.M. (1995). Arterial compliance may influence baroreflex function in athletes and hypertensives. *Am. J. Physiol.* 268, H411-418.
- Kirchgessner, T.G., Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Marino, M.W., and Hotamisligil, G.S. (1997). Tumor necrosis factor-alpha contributes to obesity-related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. *J. Clin. Invest.* 100, 2777–2782.
- Kojda, G., and Harrison, D. (1999). Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc. Res.* 43, 562–571.
- Koskinen, J., Magnussen, C.G., Sinaiko, A., Woo, J., Urbina, E., Jacobs, D.R., Steinberger, J., Prineas, R., Sabin, M.A., Burns, T., et al. (2017). Childhood Age and Associations Between Childhood Metabolic Syndrome and Adult Risk for Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes Mellitus and Carotid Intima Media Thickness: The International Childhood Cardiovascular Cohort Consortium. *J. Am. Heart Assoc.* 6.
- Kurtoğlu, S., Hatipoğlu, N., Mazıciöğlu, M., Kendirici, M., Keskin, M., and Kondolot, M. (2010). Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2, 100–106.
- Landrier, J.-F., Karkeni, E., Marcotorchino, J., Bonnet, L., and Tourniaire, F. (2016). Vitamin D modulates adipose tissue biology: possible consequences for obesity? *Proc. Nutr. Soc.* 75, 38–46.
- Lau, P.W.C., Wong, D.P., Ngo, J.K., Liang, Y., Kim, C.G., and Kim, H.S. (2015). Effects of high-intensity intermittent running exercise in overweight children. *Eur. J. Sport Sci.* 15, 182–190.
- Le Stunff, C., and Bougnères, P. (1994). Early changes in postprandial insulin secretion, not in insulin sensitivity, characterize juvenile obesity. *Diabetes* 43, 696–702.

- Lee, B.-C., and Lee, J. (2014). Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim. Biophys. Acta* *1842*, 446–462.
- Lee, M., Ebert, J.R., Kadakia, M.P., Zhang, J., and Czerwinski, S.A. (2016). Inverse associations between cardiometabolic risk factors and 25-hydroxyvitamin D in obese American children and adolescents. *Am. J. Hum. Biol. Off. J. Hum. Biol. Counc.* *28*, 736–742.
- Léger, L.A., and Lambert, J. (1982). A maximal multistage 20-m shuttle run test to predict VO<sub>2</sub> max. *Eur. J. Appl. Physiol.* *49*, 1–12.
- Leibel, R.L., Rosenbaum, M., and Hirsch, J. (1995). Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N. Engl. J. Med.* *332*, 621–628.
- Levy, B.I., Ambrosio, G., Pries, A.R., and Struijker-Boudier, H.A. (2001a). Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* *104*, 735–740.
- Levy, B.I., Ambrosio, G., Pries, A.R., and Struijker-Boudier, H.A. (2001b). Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* *104*, 735–740.
- Lindahl, F., Tesselaar, E., and Sjöberg, F. (2013). Assessing paediatric scald injuries using Laser Speckle Contrast Imaging. *Burns J. Int. Soc. Burn Inj.* *39*, 662–666.
- Loader, J., Roustit, M., Taylor, F., MacIsaac, R.J., Stewart, S., Lorenzen, C., and Walther, G. (2017). Assessing cutaneous microvascular function with iontophoresis: Avoiding non-specific vasodilation. *Microvasc. Res.* *113*, 29–39.
- Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Moodie, M.L., Hall, K.D., Gortmaker, S.L., Swinburn, B.A., James, W.P.T., Wang, Y., and McPherson, K. (2015). Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. *Lancet Lond. Engl.* *385*, 2510–2520.
- Lumeng, C.N., and Saltiel, A.R. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J. Clin. Invest.* *121*, 2111–2117.
- Macarthur, H., Westfall, T.C., and Wilken, G.H. (2008). Oxidative stress attenuates NO-induced modulation of sympathetic neurotransmission in the mesenteric arterial bed of spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *294*, H183-189.
- Maffeis, C., Banzato, C., Talamini, G., and Obesity Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology (2008). Waist-to-height ratio, a useful index to identify high metabolic risk in overweight children. *J. Pediatr.* *152*, 207–213.
- Magge, S.N., Prasad, D., Zemel, B.S., and Kelly, A. (2018). Vitamin D3 supplementation in obese, African-American, vitamin D deficient adolescents. *J. Clin. Transl. Endocrinol.* *12*, 1–7.
- Mahé, G., Haj-Yassin, F., Rousseau, P., Humeau, A., Durand, S., Leftheriotis, G., and Abraham, P. (2011). Distance between laser head and skin does not influence skin blood flow values recorded by laser speckle imaging. *Microvasc. Res.* *82*, 439–442.

- Maillot, M., Vieux, F., Ferguson, E.F., Volatier, J.-L., Amiot, M.J., and Darmon, N. (2009a). To meet nutrient recommendations, most French adults need to expand their habitual food repertoire. *J. Nutr.* *139*, 1721–1727.
- Maillot, M., Vieux, F., Ferguson, E.F., Volatier, J.-L., Amiot, M.J., and Darmon, N. (2009b). To meet nutrient recommendations, most French adults need to expand their habitual food repertoire. *J. Nutr.* *139*, 1721–1727.
- Marcotorchino, J., Gouranton, E., Romier, B., Tourniaire, F., Astier, J., Malezet, C., Amiot, M.-J., and Landrier, J.-F. (2012). Vitamin D reduces the inflammatory response and restores glucose uptake in adipocytes. *Mol. Nutr. Food Res.* *56*, 1771–1782.
- Marquina, C., Mousa, A., Scragg, R., and de Courten, B. (2018). Vitamin D and cardiometabolic disorders: a review of current evidence, genetic determinants and pathomechanisms. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.*
- Masquio, D.C.L., de Piano, A., Sanches, P.L., Corgosinho, F.C., Campos, R.M.S., Carnier, J., da Silva, P.L., Caranti, D.A., Tock, L., Oyama, L.M., et al. (2013). The effect of weight loss magnitude on pro-/anti-inflammatory adipokines and carotid intima-media thickness in obese adolescents engaged in interdisciplinary weight loss therapy. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* *79*, 55–64.
- Mathieu, P., Poirier, P., Pibarot, P., Lemieux, I., and Després, J.P. (2009). Visceral obesity the link among inflammation, hypertension, and cardiovascular disease. *Hypertension* *53*, 577–584.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., and Turner, R.C. (1985a). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* *28*, 412–419.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., and Turner, R.C. (1985b). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* *28*, 412–419.
- Maury, E., Noël, L., Detry, R., and Brichard, S.M. (2009). In Vitro Hyperresponsiveness to Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Contributes to Adipokine Dysregulation in Omental Adipocytes of Obese Subjects. *Mol. Endocrinol.* *23*, 422.
- Mazidi, M., Karimi, E., Rezaie, P., and Vatanparast, H. (2017). The impact of vitamin D supplement intake on vascular endothelial function; a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr. Res.* *61*, 1273574.
- McCarthy, H.D., Cole, T.J., Fry, T., Jebb, S.A., and Prentice, A.M. (2006). Body fat reference curves for children. *Int. J. Obes.* *2005* *30*, 598–602.
- McGarry, J.D., and Dobbins, R.L. (1999). Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia* *42*, 128–138.
- Medow, M.S., Taneja, I., and Stewart, J.M. (2007). Cyclooxygenase and nitric oxide synthase dependence of cutaneous reactive hyperemia in humans. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *293*, H425–432.

- Mellerio, H., Alberti, C., Druet, C., Capelier, F., Mercat, I., Josserand, E., Vol, S., Tichet, J., and Lévy-Marchal, C. (2012). Novel modeling of reference values of cardiovascular risk factors in children aged 7 to 20 years. *Pediatrics* *129*, e1020-1029.
- Merke, J., Milde, P., Lewicka, S., Hügel, U., Klaus, G., Mangelsdorf, D.J., Haussler, M.R., Rauterberg, E.W., and Ritz, E. (1989). Identification and regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor activity and biosynthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D3. Studies in cultured bovine aortic endothelial cells and human dermal capillaries. *J. Clin. Invest.* *83*, 1903–1915.
- Meyer, A.A., Kundt, G., Lenschow, U., Schuff-Werner, P., and Kienast, W. (2006). Improvement of early vascular changes and cardiovascular risk factors in obese children after a six-month exercise program. *J. Am. Coll. Cardiol.* *48*, 1865–1870.
- Milagro, F.I., Mansego, M.L., De Miguel, C., and Martínez, J.A. (2013). Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. *Mol. Aspects Med.* *34*, 782–812.
- Minson, C.T., Holowatz, L.A., Wong, B.J., Kenney, W.L., and Wilkins, B.W. (2002). Decreased nitric oxide- and axon reflex-mediated cutaneous vasodilation with age during local heating. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* *1985* *93*, 1644–1649.
- Mitri, J., Muraru, M.D., and Pittas, A.G. (2011). Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur. J. Clin. Nutr.* *65*, 1005–1015.
- Molinari, C., Uberti, F., Grossini, E., Vacca, G., Carda, S., Invernizzi, M., and Cisari, C. (2011). 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* *27*, 661–668.
- Monostori, P., Baráth, A., Fazekas, I., Hódi, E., Máté, A., Farkas, I., Hracskó, Z., Varga, I.S., Sümegi, V., Gellén, B., et al. (2010a). Microvascular reactivity in lean, overweight, and obese hypertensive adolescents. *Eur. J. Pediatr.* *169*, 1369–1374.
- Monostori, P., Baráth, A., Fazekas, I., Hódi, E., Máté, A., Farkas, I., Hracskó, Z., Varga, I.S., Sümegi, V., Gellén, B., et al. (2010b). Microvascular reactivity in lean, overweight, and obese hypertensive adolescents. *Eur. J. Pediatr.* *169*, 1369–1374.
- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Roche, E., and Vinet, A. (2012a). Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *13*, 441–455.
- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Roche, E., and Vinet, A. (2012b). Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *13*, 441–455.
- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Roche, E., and Vinet, A. (2012c). Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *13*, 441–455.
- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Mercier, C.S., Roche, E., and Vinet, A. (2013). Leg arterial stiffness after weight loss in severely obese adolescents. *Int. J. Cardiol.* *168*, 1676–1677.

- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Mercier, C.S., Gayrard, S., Vicente-Salar, N., Sempere-Ortells, J.M., Martinez-Peinado, P., Roche, E., and Vinet, A. (2014a). Effects of a lifestyle program on vascular reactivity in macro- and microcirculation in severely obese adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *99*, 1019–1026.
- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Mercier, C.S., Gayrard, S., Vicente-Salar, N., Sempere-Ortells, J.M., Martinez-Peinado, P., Roche, E., and Vinet, A. (2014b). Effects of a lifestyle program on vascular reactivity in macro- and microcirculation in severely obese adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *99*, 1019–1026.
- Moore, C.E., and Liu, Y. (2016). Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with total adiposity of children in the United States: National Health and Examination Survey 2005 to 2006. *Nutr. Res. N. Y. N* *36*, 72–79.
- Moore, C.E., and Liu, Y. (2017). Elevated systolic blood pressure of children in the United States is associated with low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations related to body mass index: National Health and Examination Survey 2007–2010. *Nutr. Res. N. Y. N* *38*, 64–70.
- de Moraes, R., Van Bavel, D., Gomes, M. de B., and Tibiriçá, E. (2016). Effects of non-supervised low intensity aerobic exercise training on the microvascular endothelial function of patients with type 1 diabetes: a non-pharmacological interventional study. *BMC Cardiovasc. Disord.* *16*, 23.
- Morrissey, C., Montero, D., Raverdy, C., Masson, D., Amiot, M.-J., and Vinet, A. (2018). Effects of Exercise Intensity on Microvascular Function in Obese Adolescents. *Int. J. Sports Med.* *39*, 450–455.
- Must, A., and Anderson, S.E. (2006a). Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. *Int. J. Obes.* *2005* *30*, 590–594.
- Must, A., and Anderson, S.E. (2006b). Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. *Int. J. Obes.* *2005* *30*, 590–594.
- Must, A., and Tybor, D.J. (2005). Physical activity and sedentary behavior: a review of longitudinal studies of weight and adiposity in youth. *Int. J. Obes.* *2005* *29 Suppl 2*, S84–96.
- Must, A., Jacques, P.F., Dallal, G.E., Bajema, C.J., and Dietz, W.H. (1992). Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N. Engl. J. Med.* *327*, 1350–1355.
- Nader, N.S., Aguirre Castaneda, R., Wallace, J., Singh, R., Weaver, A., and Kumar, S. (2014). Effect of vitamin D3 supplementation on serum 25(OH)D, lipids and markers of insulin resistance in obese adolescents: a prospective, randomized, placebo-controlled pilot trial. *Horm. Res. Paediatr.* *82*, 107–112.
- Nagpal, S., Na, S., and Rathnachalam, R. (2005). Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr. Rev.* *26*, 662–687.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents (2004). The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* *114*, 555–576.

- Nesby-O'Dell, S., Scanlon, K.S., Cogswell, M.E., Gillespie, C., Hollis, B.W., Looker, A.C., Allen, C., Dougherty, C., Gunter, E.W., and Bowman, B.A. (2002). Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am. J. Clin. Nutr.* *76*, 187–192.
- Ni, W., Watts, S.W., Ng, M., Chen, S., Glenn, D.J., and Gardner, D.G. (2014a). Elimination of vitamin D receptor in vascular endothelial cells alters vascular function. *Hypertens. Dallas Tex* *1979* *64*, 1290–1298.
- Ni, W., Watts, S.W., Ng, M., Chen, S., Glenn, D.J., and Gardner, D.G. (2014b). Elimination of vitamin D receptor in vascular endothelial cells alters vascular function. *Hypertens. Dallas Tex* *1979* *64*, 1290–1298.
- Núñez, F., Martínez-Costa, C., Sánchez-Zahonero, J., Morata, J., Chorro, F.J., and Brines, J. (2010). Carotid artery stiffness as an early marker of vascular lesions in children and adolescents with cardiovascular risk factors. *Rev. Esp. Cardiol.* *63*, 1253–1260.
- Ostrem, J.D., Evanoff, N., Kelly, A.S., and Dengel, D.R. (2015). Presence of a high-flow-mediated constriction phenomenon prior to flow-mediated dilation in normal weight, overweight, and obese children and adolescents. *J. Clin. Ultrasound JCU* *43*, 495–501.
- Ozcan, L., Ergin, A.S., Lu, A., Chung, J., Sarkar, S., Nie, D., Myers, M.G., and Ozcan, U. (2009). Endoplasmic reticulum stress plays a central role in development of leptin resistance. *Cell Metab.* *9*, 35–51.
- Pacifico, L., Anania, C., Osborn, J.F., Ferraro, F., Bonci, E., Olivero, E., and Chiesa, C. (2011a). Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur. J. Endocrinol.* *165*, 603–611.
- Pacifico, L., Anania, C., Osborn, J.F., Ferraro, F., Bonci, E., Olivero, E., and Chiesa, C. (2011b). Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur. J. Endocrinol.* *165*, 603–611.
- Pannu, P.K., Zhao, Y., and Soares, M.J. (2016). Reductions in body weight and percent fat mass increase the vitamin D status of obese subjects: a systematic review and metaregression analysis. *Nutr. Res. N. Y. N* *36*, 201–213.
- Pasceri, V., Willerson, J.T., and Yeh, E.T. (2000). Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* *102*, 2165–2168.
- Patik, J.C., Christmas, K.M., Hurr, C., and Brothers, R.M. (2016). Impaired endothelium independent vasodilation in the cutaneous microvasculature of young obese adults. *Microvasc. Res.* *104*, 63–68.
- Pellegrin, M., Miguet-Alfonsi, C., Bouzourene, K., Aubert, J.-F., Deckert, V., Berthelot, A., Mazzolai, L., and Laurant, P. (2009). Long-term exercise stabilizes atherosclerotic plaque in ApoE knockout mice. *Med. Sci. Sports Exerc.* *41*, 2128–2135.
- Pinhas-Hamiel, O., and Zeitler, P. (2005). Advances in epidemiology and treatment of type 2 diabetes in children. *Adv. Pediatr.* *52*, 223–259.

- Pinkney, J.H., Stehouwer, C.D., Coppack, S.W., and Yudkin, J.S. (1997). Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 46 Suppl 2, S9-13.
- Pittas, A.G., Harris, S.S., Stark, P.C., and Dawson-Hughes, B. (2007). The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care* 30, 980–986.
- Portale, A.A., and Miller, W.L. (2000). Human 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroxylase: cloning, mutations, and gene expression. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 14, 620–625.
- Prentice, A., and Jebb, S. (2004). Energy intake/physical activity interactions in the homeostasis of body weight regulation. *Nutr. Rev.* 62, S98-104.
- Prochotska, K., Kovacs, L., Vitariusova, E., and Feber, J. (2016a). Is arterial stiffness predicted by continuous metabolic syndrome score in obese children? *J. Am. Soc. Hypertens. JASH* 10, 47–54.
- Prochotska, K., Kovacs, L., Vitariusova, E., and Feber, J. (2016b). Is arterial stiffness predicted by continuous metabolic syndrome score in obese children? *J. Am. Soc. Hypertens. JASH* 10, 47–54.
- Quarta, C., Clemmensen, C., Zhu, Z., Yang, B., Joseph, S.S., Lutter, D., Yi, C.-X., Graf, E., García-Cáceres, C., Legutko, B., et al. (2017). Molecular Integration of Incretin and Glucocorticoid Action Reverses Immunometabolic Dysfunction and Obesity. *Cell Metab.*
- Quinart, S., Mougín, F., Simon-Rigaud, M.-L., Nicolet-Guénat, M., Nègre, V., and Regnard, J. (2014). Evaluation of cardiorespiratory fitness using three field tests in obese adolescents: validity, sensitivity and prediction of peak VO<sub>2</sub>. *J. Sci. Med. Sport* 17, 521–525.
- Raed, A., Bhagatwala, J., Zhu, H., Pollock, N.K., Parikh, S.J., Huang, Y., Havens, R., Kotak, I., Guo, D.-H., and Dong, Y. (2017). Dose responses of vitamin D<sub>3</sub> supplementation on arterial stiffness in overweight African Americans with vitamin D deficiency: A placebo controlled randomized trial. *PLoS One* 12, e0188424.
- Rajakumar, K., Fernstrom, J.D., Holick, M.F., Janosky, J.E., and Greenspan, S.L. (2008). Vitamin D status and response to Vitamin D(3) in obese vs. non-obese African American children. *Obes. Silver Spring Md* 16, 90–95.
- Ramos, J.S., Dalleck, L.C., Tjonna, A.E., Beetham, K.S., and Coombes, J.S. (2015). The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med. Auckl. NZ* 45, 679–692.
- Ramos-Lobo, A.M., and Donato, J. (2017). The role of leptin in health and disease. *Temp. Austin Tex* 4, 258–291.
- Randle, P.J., Garland, P.B., Hales, C.N., and Newsholme, E.A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet Lond. Engl.* 1, 785–789.
- Rankinen, T., and Bouchard, C. (2006). Genetics of food intake and eating behavior phenotypes in humans. *Annu. Rev. Nutr.* 26, 413–434.

- Reboul, E., Goncalves, A., Comera, C., Bott, R., Nowicki, M., Landrier, J.-F., Jourdheuil-Rahmani, D., Dufour, C., Collet, X., and Borel, P. (2011). Vitamin D intestinal absorption is not a simple passive diffusion: evidences for involvement of cholesterol transporters. *Mol. Nutr. Food Res.* *55*, 691–702.
- Reeder, B.A., Senthilselvan, A., Després, J.P., Angel, A., Liu, L., Wang, H., and Rabkin, S.W. (1997). The association of cardiovascular disease risk factors with abdominal obesity in Canada. Canadian Heart Health Surveys Research Group. *CMAJ Can. Med. Assoc. J. J. Assoc. Medicale Can.* *157 Suppl 1*, S39-45.
- Reinehr, T., and Andler, W. (2004). Changes in the atherogenic risk factor profile according to degree of weight loss. *Arch. Dis. Child.* *89*, 419–422.
- Reinehr, T., Kiess, W., de Sousa, G., Stoffel-Wagner, B., and Wunsch, R. (2006). Intima media thickness in childhood obesity: relations to inflammatory marker, glucose metabolism, and blood pressure. *Metabolism.* *55*, 113–118.
- Reinehr, T., de Sousa, G., Alexy, U., Kersting, M., and Andler, W. (2007). Vitamin D status and parathyroid hormone in obese children before and after weight loss. *Eur. J. Endocrinol.* *157*, 225–232.
- Reinehr, T., Lindberg, A., Toschke, C., Cara, J., Chrysis, D., and Camacho-Hübner, C. (2016). Weight gain in Turner Syndrome: association to puberty induction? - longitudinal analysis of KIGS data. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* *85*, 85–91.
- Rey, O., Mañano, C., Nicol, C., Mercier, C.-S., and Vallier, J.-M. (2016). Psycho-Physiological Responses of Obese Adolescents to an Intermittent Run Test Compared with a 20-M Shuttle Run. *J. Sports Sci. Med.* *15*, 451–459.
- Reyman, M., Verrijn Stuart, A.A., van Summeren, M., Rakhshandehroo, M., Nuboer, R., de Boer, F.K., van den Ham, H.J., Kalkhoven, E., Prakken, B., and Schipper, H.S. (2014). Vitamin D deficiency in childhood obesity is associated with high levels of circulating inflammatory mediators, and low insulin sensitivity. *Int. J. Obes.* *2005 38*, 46–52.
- Ribeiro, M.M., Silva, A.G., Santos, N.S., Guazzelle, I., Matos, L.N.J., Trombetta, I.C., Halpern, A., Negrão, C.E., and Villares, S.M.F. (2005). Diet and exercise training restore blood pressure and vasodilatory responses during physiological maneuvers in obese children. *Circulation* *111*, 1915–1923.
- Rizzoni, D., Agabiti-Rosei, C., and Agabiti-Rosei, E. (2017). Hemodynamic Consequences of Changes in Microvascular Structure. *Am. J. Hypertens.* *30*, 939–946.
- Roberts, C., Andrea, H., and Barnard, J. (2014). Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. *Compr Physiol* *3*, 1–58.
- Roberts, C.K., Hevener, A.L., and Barnard, R.J. (2013). Metabolic syndrome and insulin resistance: underlying causes and modification by exercise training. *Compr. Physiol.* *3*, 1–58.
- Roca, F., Iacob, M., Remy-Jouet, I., Bellien, J., and Joannides, R. (2018). Evidence for a Role of Vascular Endothelium in the Control of Arterial Wall Viscosity in Humans. *Hypertens. Dallas Tex* *1979 71*, 143–150.

- Rolland-Cachera, M.F. (2011). Childhood obesity: current definitions and recommendations for their use. *Int. J. Pediatr. Obes. IJPO Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* 6, 325–331.
- Rolland-Cachera, M.F., Cole, T.J., Sempé, M., Tichet, J., Rossignol, C., and Charraud, A. (1991). Body Mass Index variations: centiles from birth to 87 years. *Eur. J. Clin. Nutr.* 45, 13–21.
- Rosenbaum, M., Sy, M., Pavlovich, K., Leibel, R.L., and Hirsch, J. (2008). Leptin reverses weight loss-induced changes in regional neural activity responses to visual food stimuli. *J. Clin. Invest.* 118, 2583–2591.
- Rosenblum, J.L., Castro, V.M., Moore, C.E., and Kaplan, L.M. (2012). Calcium and vitamin D supplementation is associated with decreased abdominal visceral adipose tissue in overweight and obese adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 95, 101–108.
- Ross, A.C., Manson, J.E., Abrams, S.A., Aloia, J.F., Brannon, P.M., Clinton, S.K., Durazo-Arvizu, R.A., Gallagher, J.C., Gallo, R.L., Jones, G., et al. (2011). The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, 53–58.
- Rossi, M., Bradbury, A., Magagna, A., Pesce, M., Taddei, S., and Stefanovska, A. (2011a). Investigation of skin vasoreactivity and blood flow oscillations in hypertensive patients: effect of short-term antihypertensive treatment. *J. Hypertens.* 29, 1569–1576.
- Rossi, P., Francès, Y., Kingwell, B.A., and Ahimastos, A.A. (2011b). Gender differences in artery wall biomechanical properties throughout life. *J. Hypertens.* 29, 1023–1033.
- Rossi D, Mauffrey D, Nicol C. Présentation d'un protocole de test d'aptitude à l'effort aérobie. *Revue Hyper* 2009;244:4–9.
- Roustit, M., and Cracowski, J.-L. (2012). Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirc. N. Y. N 1994* 19, 47–64.
- Roustit, M., and Cracowski, J.-L. (2013a). Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol. Sci.* 34, 373–384.
- Roustit, M., and Cracowski, J.-L. (2013b). Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol. Sci.* 34, 373–384.
- Roustit, M., Blaise, S., Millet, C., and Cracowski, J.L. (2010). Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc. Res.* 79, 102–108.
- Rubanyi, G.M., and Vanhoutte, P.M. (1986). Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 250, H822–827.
- Ryder, J.R., Dengel, D.R., Jacobs, D.R., Sinaiko, A.R., Kelly, A.S., and Steinberger, J. (2016). Relations among Adiposity and Insulin Resistance with Flow-Mediated Dilatation, Carotid Intima-Media Thickness, and Arterial Stiffness in Children. *J. Pediatr.* 168, 205–211.

- Saggese, G., Vierucci, F., Prodam, F., Cardinale, F., Cetin, I., Chiappini, E., De' Angelis, G.L., Massari, M., Miraglia Del Giudice, E., Miraglia Del Giudice, M., et al. (2018). Vitamin D in pediatric age: consensus of the Italian Pediatric Society and the Italian Society of Preventive and Social Pediatrics, jointly with the Italian Federation of Pediatricians. *Ital. J. Pediatr.* *44*, 51.
- Sakuma, I., Stuehr, D.J., Gross, S.S., Nathan, C., and Levi, R. (1988). Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *85*, 8664–8667.
- Savastano, S., Barrea, L., Savanelli, M.C., Nappi, F., Di Somma, C., Orio, F., and Colao, A. (2017a). Low vitamin D status and obesity: Role of nutritionist. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* *18*, 215–225.
- Savastano, S., Barrea, L., Savanelli, M.C., Nappi, F., Di Somma, C., Orio, F., and Colao, A. (2017b). Low vitamin D status and obesity: Role of nutritionist. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*
- Schlager, O., Willfort-Ehringer, A., Hammer, A., Steiner, S., Fritsch, M., Giurgea, A., Margeta, C., Lilaj, I., Zehetmayer, S., Widhalm, K., et al. (2011a). Microvascular function is impaired in children with morbid obesity. *Vasc. Med. Lond. Engl.* *16*, 97–102.
- Schlager, O., Willfort-Ehringer, A., Hammer, A., Steiner, S., Fritsch, M., Giurgea, A., Margeta, C., Lilaj, I., Zehetmayer, S., Widhalm, K., et al. (2011b). Microvascular function is impaired in children with morbid obesity. *Vasc. Med. Lond. Engl.* *16*, 97–102.
- Schmidt, H.H., Nau, H., Wittfoht, W., Gerlach, J., Prescher, K.E., Klein, M.M., Niroomand, F., and Böhme, E. (1988). Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.* *154*, 213–216.
- Schuler, G., Adams, V., and Goto, Y. (2013). Role of exercise in the prevention of cardiovascular disease: results, mechanisms, and new perspectives. *Eur. Heart J.* *34*, 1790–1799.
- Schulz, E., Steven, S., and Münzel, T. (2014). Is at least one vitamin helping our vasculature? Evidence for an important role of the endothelial vitamin d receptor in regulating endothelial function and blood pressure. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *64*, 1187–1188.
- Schuster, I. (2011). Cytochromes P450 are essential players in the vitamin D signaling system. *Biochim. Biophys. Acta* *1814*, 186–199.
- Serdula, M.K., Collins, M.E., Williamson, D.F., Anda, R.F., Pamuk, E., and Byers, T.E. (1993). Weight control practices of U.S. adolescents and adults. *Ann. Intern. Med.* *119*, 667–671.
- Serné, E.H., de Jongh, R.T., Eringa, E.C., IJzerman, R.G., and Stehouwer, C.D.A. (2007). Microvascular dysfunction: a potential pathophysiological role in the metabolic syndrome. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *50*, 204–211.
- Sheikh, A.B., Nasrullah, A., Haq, S., Akhtar, A., Ghazanfar, H., Nasir, A., Afzal, R.M., Bukhari, M.M., Chaudhary, A.Y., and Naqvi, S.W. (2017). The Interplay of Genetics and Environmental Factors in the Development of Obesity. *Cureus* *9*, 6–13.

- Shi, H., Norman, A.W., Okamura, W.H., Sen, A., and Zemel, M.B. (2001). 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates human adipocyte metabolism via nongenomic action. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *15*, 2751–2753.
- Silveira, L.S., Monteiro, P.A., Antunes, B. de M.M., Seraphim, P.M., Fernandes, R.A., Christofaro, D.G.D., and Freitas Júnior, I.F. (2013). Intra-abdominal fat is related to metabolic syndrome and non-alcoholic fat liver disease in obese youth. *BMC Pediatr.* *13*, 115.
- Singh, J., Merrill, E.D., Sandesara, P.B., Schoeneberg, L., Dai, H., and Raghuveer, G. (2015a). Vitamin D, Low-Grade Inflammation and Cardiovascular Risk in Young Children: A Pilot Study. *Pediatr. Cardiol.* *36*, 1338–1343.
- Singh, J., Merrill, E.D., Sandesara, P.B., Schoeneberg, L., Dai, H., and Raghuveer, G. (2015b). Vitamin D, Low-Grade Inflammation and Cardiovascular Risk in Young Children: A Pilot Study. *Pediatr. Cardiol.* *36*, 1338–1343.
- Singh, J., Merrill, E.D., Sandesara, P.B., Schoeneberg, L., Dai, H., and Raghuveer, G. (2015c). Vitamin D, Low-Grade Inflammation and Cardiovascular Risk in Young Children: A Pilot Study. *Pediatr. Cardiol.* *36*, 1338–1343.
- Singh, R., Verma, A., Aljabari, S., and Vasylyeva, T.L. (2017). Urinary biomarkers as indicator of chronic inflammation and endothelial dysfunction in obese adolescents. *BMC Obes.* *4*, 11.
- Skilton, M.R., Yeo, S.Q., Ne, J.Y.A., Celermajer, D.S., Caterson, I.D., and Lee, C.M.Y. (2017). Weight loss and carotid intima-media thickness—a meta-analysis. *Obes. Silver Spring Md* *25*, 357–362.
- Skinner, A.C., and Skelton, J.A. (2014). Prevalence and trends in obesity and severe obesity among children in the United States, 1999–2012. *JAMA Pediatr.* *168*, 561–566.
- Song, Y., Manson, J.E., Tinker, L., Howard, B. V., Kuller, L.H., Nathan, L., Rifai, N., and Liu, S. (2007a). Insulin Sensitivity and Insulin Secretion Determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and Risk of Diabetes in a Multiethnic Cohort of Women: The Women’s Health Initiative Observational Study. *Diabetes Care* *30*, 1747–1752.
- Song, Y., Manson, J.E., Tinker, L., Howard, B.V., Kuller, L.H., Nathan, L., Rifai, N., and Liu, S. (2007b). Insulin Sensitivity and Insulin Secretion Determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and Risk of Diabetes in a Multiethnic Cohort of Women: The Women’s Health Initiative Observational Study. *Diabetes Care* *30*, 1747–1752.
- Spiegelman, B.M., and Flier, J.S. (2001). Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* *104*, 531–543.
- Stapleton, P.A., James, M.E., Goodwill, A.G., and Frisbee, J.C. (2008). Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiol. Off. J. Int. Soc. Pathophysiol.* *15*, 79–89.
- Strasser, B. (2013). Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1281*, 141–159.
- Stricker, H., Tosi Bianda, F., Guidicelli-Nicolosi, S., Limoni, C., and Colucci, G. (2012). Effect of a single, oral, high-dose vitamin D supplementation on endothelial function in patients with

- peripheral arterial disease: a randomised controlled pilot study. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. Off. J. Eur. Soc. Vasc. Surg.* *44*, 307–312.
- Sugden, J.A., Davies, J.I., Witham, M.D., Morris, A.D., and Struthers, A.D. (2008). Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc.* *25*, 320–325.
- Szlagatys-Sidorkiewicz, A., Brzeziński, M., Jankowska, A., Metelska, P., Słomińska-Frączek, M., and Socha, P. (2017). Long-term effects of vitamin D supplementation in vitamin D deficient obese children participating in an integrated weight-loss programme (a double-blind placebo-controlled study) - rationale for the study design. *BMC Pediatr.* *17*, 97.
- Taylor, C.W., and Prole, D.L. (2012). Ca(2+) signalling by IP(3) receptors. *Subcell. Biochem.* *59*, 1–34.
- Teegarden, D., and Donkin, S.S. (2009a). Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutr. Res. Rev.* *22*, 82–92.
- Teegarden, D., and Donkin, S.S. (2009b). Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutr. Res. Rev.* *22*, 82–92.
- Tesselaar, E., and Sjöberg, F. (2011). Transdermal iontophoresis as an in-vivo technique for studying microvascular physiology. *Microvasc. Res.* *81*, 88–96.
- Tew, G.A., Klonizakis, M., Moss, J., Ruddock, A.D., Saxton, J.M., and Hodges, G.J. (2011). Role of sensory nerves in the rapid cutaneous vasodilator response to local heating in young and older endurance-trained and untrained men. *Exp. Physiol.* *96*, 163–170.
- Thijssen, D.H.J., Black, M.A., Pyke, K.E., Padilla, J., Atkinson, G., Harris, R.A., Parker, B., Widlansky, M.E., Tschakovsky, M.E., and Green, D.J. (2011a). Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *300*, H2-12.
- Thijssen, D.H.J., Black, M.A., Pyke, K.E., Padilla, J., Atkinson, G., Harris, R.A., Parker, B., Widlansky, M.E., Tschakovsky, M.E., and Green, D.J. (2011b). Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *300*, H2-12.
- Thivel, D., O'Malley, G., Blourdier, D., Tremeaux, M., Zanchet, C., Pereira, B., and Ratel, S. (2017). Reproducibility of the intermittent Spartacus Run Test in obese adolescents. *J. Sports Med. Phys. Fitness* *57*, 1083–1088.
- Tirosh, A., Shai, I., Afek, A., Dubnov-Raz, G., Ayalon, N., Gordon, B., Derazne, E., Tzur, D., Shamis, A., Vinker, S., et al. (2011). Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. *N. Engl. J. Med.* *364*, 1315–1325.
- Tjønnå, A.E., Stølen, T.O., Bye, A., Volden, M., Slørdahl, S.A., Odegård, R., Skogvoll, E., and Wisløff, U. (2009). Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clin. Sci. Lond. Engl.* *199* *116*, 317–326.
- Tounian, P., Aggoun, Y., Dubern, B., Varille, V., Guy-Grand, B., Sidi, D., Girardet, J.P., and Bonnet, D. (2001a). Presence of increased stiffness of the common carotid artery and

- endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet Lond. Engl.* 358, 1400–1404.
- Tounian, P., Aggoun, Y., Dubern, B., Varille, V., Guy-Grand, B., Sidi, D., Girardet, J.P., and Bonnet, D. (2001b). Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet Lond. Engl.* 358, 1400–1404.
- Tounian, P., Aggoun, Y., Dubern, B., Varille, V., Guy-Grand, B., Sidi, D., Girardet, J.P., and Bonnet, D. (2001c). Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet Lond. Engl.* 358, 1400–1404.
- Turer, C.B., Lin, H., and Flores, G. (2013). Prevalence of vitamin D deficiency among overweight and obese US children. *Pediatrics* 131, e152-161.
- Uematsu, M., Ohara, Y., Navas, J.P., Nishida, K., Murphy, T.J., Alexander, R.W., Nerem, R.M., and Harrison, D.G. (1995). Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress. *Am. J. Physiol.* 269, C1371-1378.
- Urbina, E.M., Kimball, T.R., McCoy, C.E., Khoury, P.R., Daniels, S.R., and Dolan, L.M. (2009). Youth with obesity and obesity-related type 2 diabetes mellitus demonstrate abnormalities in carotid structure and function. *Circulation* 119, 2913–2919.
- Valcour, A., Blocki, F., Hawkins, D.M., and Rao, S.D. (2012). Effects of age and serum 25-OH-vitamin D on serum parathyroid hormone levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, 3989–3995.
- Valdivielso, J.M. (2009). The physiology of vitamin D receptor activation. *Contrib. Nephrol.* 163, 206–212.
- Van Der Aa, M.P., Knibbe, C.A.J., Boer, A. De, and Van Der Vorst, M.M.J. (2017). Definition of insulin resistance affects prevalence rate in pediatric patients: A systematic review and call for consensus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 30, 123–131.
- Vanhoutte, P.M. (1998). Vascular biology. Old-timer makes a comeback. *Nature* 396, 213, 215–216.
- Vanhoutte, P.M. (2001). Endothelium-derived free radicals: for worse and for better. *J. Clin. Invest.* 107, 23–25.
- Villagran Pérez, S., Novalbos-Ruiz, J.P., Rodríguez-Martín, A., Martínez-Nieto, J.M., and Lechuga-Sancho, A.M. (2013). Implications of family socioeconomic level on risk behaviors in child-youth obesity. *Nutr. Hosp.* 28, 1951–1960.
- Vinet, A., Obert, P., Dutheil, F., Diagne, L., Chapier, R., Lesourd, B., Courteix, D., and Walther, G. (2015). Impact of a lifestyle program on vascular insulin resistance in metabolic syndrome subjects: the RESOLVE study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100, 442–450.
- Vinet, A., Obert, P., Courteix, D., Chapier, R., Lesourd, B., Verney, J., Dutheil, F., and Walther, G. (2018). Different modalities of exercise improve macrovascular function but not

- microvascular function in metabolic syndrome: The RESOLVE randomized trial. *Int. J. Cardiol.* 267, 165–170.
- Virdis, A., Colucci, R., Bernardini, N., Blandizzi, C., Taddei, S., and Masi, S. (2018). Microvascular endothelial dysfunction in human obesity: role of TNF- $\alpha$ . *J. Clin. Endocrinol. Metab.*
- Wacker, M., and Holick, M.F. (2013a). Vitamin D - effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients* 5, 111–148.
- Wacker, M., and Holick, M.F. (2013b). Vitamin D - effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients* 5, 111–148.
- Walther, G., Nottin, S., Karpoff, L., Pérez-Martin, A., Dauzat, M., and Obert, P. (2008). Flow-mediated dilation and exercise-induced hyperaemia in highly trained athletes: comparison of the upper and lower limb vasculature. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 193, 139–150.
- Wamberg, L., Kampmann, U., Stødkilde-Jørgensen, H., Rejnmark, L., Pedersen, S.B., and Richelsen, B. (2013). Effects of vitamin D supplementation on body fat accumulation, inflammation, and metabolic risk factors in obese adults with low vitamin D levels - results from a randomized trial. *Eur. J. Intern. Med.* 24, 644–649.
- Wang, L., Song, Y., Manson, J.E., Pilz, S., März, W., Michaëlsson, K., Lundqvist, A., Jassal, S.K., Barrett-Connor, E., Zhang, C., et al. (2012). Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes* 5, 819–829.
- Wang, L., Wang, H., Wen, H., Tao, H., and Zhao, X. (2016). Relationship between HOMA-IR and serum vitamin D in Chinese children and adolescents. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* 29, 777–781.
- Wareham, N.J., van Sluijs, E.M.F., and Ekelund, U. (2005). Physical activity and obesity prevention: a review of the current evidence. *Proc. Nutr. Soc.* 64, 229–247.
- Watts, K., Beye, P., Siafarikas, A., O’Driscoll, G., Jones, T.W., Davis, E.A., and Green, D.J. (2004). Effects of exercise training on vascular function in obese children. *J. Pediatr.* 144, 620–625.
- Weir, R.R., Strain, J.J., Johnston, M., Lowis, C., Fearon, A.M., Stewart, S., and Pourshahidi, L.K. (2017). Environmental and genetic factors influence the vitamin D content of cows’ milk. *Proc. Nutr. Soc.* 76, 76–82.
- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., and Ferrante, A.W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796–1808.
- Whelton, P.K., He, J., Appel, L.J., Cutler, J.A., Havas, S., Kotchen, T.A., Roccella, E.J., Stout, R., Vallbona, C., Winston, M.C., et al. (2002). Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. *JAMA* 288, 1882–1888.

- Whitaker, R.C., Wright, J.A., Pepe, M.S., Seidel, K.D., and Dietz, W.H. (1997). Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N. Engl. J. Med.* *337*, 869–873.
- Wiernsperger, N., and Rapin, J.R. (2012). Microvascular diseases: is a new era coming? *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* *10*, 167–183.
- Winer, J.C., Zern, T.L., Taksali, S.E., Dziura, J., Cali, A.M.G., Wollschlager, M., Seyal, A.A., Weiss, R., Burgert, T.S., and Caprio, S. (2006). Adiponectin in childhood and adolescent obesity and its association with inflammatory markers and components of the metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *91*, 4415–4423.
- Wirix, A.J.G., Kaspers, P.J., Nauta, J., Chinapaw, M.J.M., and Kist-van Holthe, J.E. (2015). Pathophysiology of hypertension in obese children: a systematic review. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* *16*, 831–842.
- Witham, M.D., Adams, F., Kabir, G., Kennedy, G., Belch, J.J.F., and Khan, F. (2013). Effect of short-term vitamin D supplementation on markers of vascular health in South Asian women living in the UK—a randomised controlled trial. *Atherosclerosis* *230*, 293–299.
- Wong, B.J., Wilkins, B.W., Holowatz, L.A., and Minson, C.T. (2003). Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* *1985* *95*, 504–510.
- Wong, M.S.K., Leisegang, M.S., Kruse, C., Vogel, J., Schürmann, C., Dehne, N., Weigert, A., Herrmann, E., Brüne, B., Shah, A.M., et al. (2014). Vitamin D promotes vascular regeneration. *Circulation* *130*, 976–986.
- Woo, K.S., Chook, P., Yu, C.W., Sung, R.Y.T., Qiao, M., Leung, S.S.F., Lam, C.W.K., Metreweli, C., and Celermajer, D.S. (2004). Overweight in children is associated with arterial endothelial dysfunction and intima-media thickening. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* *28*, 852–857.
- Wortsman, J., Matsuoka, L.Y., Chen, T.C., Lu, Z., and Holick, M.F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* *72*, 690–693.
- Wray, D.W., Uberoi, A., Lawrenson, L., and Richardson, R.S. (2005). Heterogeneous limb vascular responsiveness to shear stimuli during dynamic exercise in humans. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* *1985* *99*, 81–86.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* *112*, 1821–1830.
- Zalba, G., Beaumont, J., San José, G., Fortuño, A., Fortuño, M.A., and Díez, J. (2000). Vascular oxidant stress: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J. Physiol. Biochem.* *56*, 57–64.
- Zanetti, M., Harris, S.S., and Dawson-Hughes, B. (2014). Ability of vitamin D to reduce inflammation in adults without acute illness. *Nutr. Rev.* *72*, 95–98.

- Zhang, Y., and Zhang, D.-Z. (2018). Circulating parathyroid hormone and risk of hypertension: A meta-analysis. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* *482*, 40–45.
- Zhong, W., Gu, B., Gu, Y., Groome, L.J., Sun, J., and Wang, Y. (2014). Activation of vitamin D receptor promotes VEGF and CuZn-SOD expression in endothelial cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *140*, 56–62.
- Ziegler, O., Quilliot, D., and Guerci, B. (2000). [Physiopathology of obesity. Dietary factors, and regulation of the energy balance]. *Ann. Endocrinol.* *61 Suppl 6*, 12–23.
- Zimmet, P., Alberti, K.G.M., Kaufman, F., Tajima, N., Silink, M., Arslanian, S., Wong, G., Bennett, P., Shaw, J., and Caprio, S. (2007). The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr. Diabetes* *8*, 299–306.
- Zócalo, Y., Marotta, M., García-Espinosa, V., Curcio, S., Chiesa, P., Giachetto, G., and Bia, D. (2017a). Children and Adolescents Macrovascular Reactivity Level and Dynamics, But Not the Microvascular Response, is Associated with Body Mass Index and Arterial Stiffness Levels. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev. Off. J. Ital. Soc. Hypertens.* *24*, 371–386.
- Zócalo, Y., Marotta, M., García-Espinosa, V., Curcio, S., Chiesa, P., Giachetto, G., and Bia, D. (2017b). Children and Adolescents Macrovascular Reactivity Level and Dynamics, But Not the Microvascular Response, is Associated with Body Mass Index and Arterial Stiffness Levels. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev. Off. J. Ital. Soc. Hypertens.* *24*, 371–386.
- Zötterman, J., Mirdell, R., Horsten, S., Farnebo, S., and Tesselaar, E. (2017). Methodological concerns with laser speckle contrast imaging in clinical evaluation of microcirculation. *PLoS One* *12*, e0174703.
- (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* *894*, i–xii, 1–253.
- (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N. Engl. J. Med.*

# **ANNEXES**

Institut St Pierre  
Service UDM

## Enquête alimentaire à domicile



Cette enquête alimentaire est à réaliser sur **3 jours consécutifs lors des vacances de Toussaint.**

Il est important :

- ❖ d'essayer d'être le plus précis possible
  - ❖ de bien suivre les instructions au verso
  - ❖ d'essayer de mettre en application petit à petit ce que tu apprend tout au long de ton séjour
- N'oublie pas que la diététicienne **n'est pas là pour te juger** mais plutôt pour **corriger** tes éventuelles **erreurs alimentaires**.

**Nom :**

**Date :**

**Poids :**

**Prénom :**

**Date de naissance :**

**Taille :**

## ANNEXE N°1 - MATERIELS &amp; METHODES

<b>Evaluation des quantités consommées :</b>
--



- Lait : bol, tasse ou verre
- Laitages (yaourts, fromage blanc, petit-suisse) : à l'unité
- Fromage : à la portion (prendre pour référence les portions individuelles du commerce)



- Pain : en tranche ou en ¼ de baguette (préciser le type de pain consommé)



- Biscottes : à l'unité
- Féculents : en cuillère à soupe et après cuisson
- Légumes : en cuillère à soupe ou en louche (potage)



- Viande : prendre pour portion type le steak haché (100g)



- Fruit : à l'unité
- Biscuits : bien préciser la marque (BN, sablés, madeleines...) et quantifier en unité
- Céréales : en bol ou en poignée (=15g)
- Pâtisserie : en portion type



- Beurre ou margarine : en noix ou noisette (1 micro-plaquette=10g)
- Huile : en cuillère à café ou à soupe



- Crème fraîche : en cuillère à café ou à soupe
- Sauce (Mayonnaise, ketchup, sauces préparées) : en cuillère à café ou à soupe
- Boissons sucrées : en verre



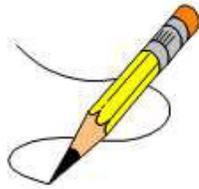
- Biscuits apéritifs : à l'unité (Tuc...), en sachet (Chips...), en poignée (Cacahuètes...)
- Bonbons : en unité (spécifier la marque)

## Ambiance du repas :



Note si tu manges par ennui, par faim...  
 Qui t'accompagne...  
 Si tu fais autre chose durant le repas  
 Combien de temps dure ton repas.

## Comment l'aliment est-il préparé?



Note si l'aliment est cuit :

- au four (dans un plat, en papillote, au tourne-broche)
- à la poêle
- à la vapeur
- à l'eau
- au grill
- en sauce



Note ce que toi ou tes parents mettent pendant et après la cuisson ou lors de la préparation (en cuillère à café ou à soupe) :

Huile  
 Beurre  
 Margarine

Farine  
 Vinaigrette

Crème fraîche  
 Tomate : concentrée ou coulis



Vin

## Et pour finir...



**ATTENTION** de bien noter tout ce que tu manges, à tout moment de la journée, au fur et à mesure. Indique bien les quantités sans oublier les boissons (même l'eau).  
 De plus, essaye de t'impliquer dans ton alimentation en participant aux courses et essaye d'être attentif à la préparation de tous les repas que tu vas ensuite consommer (même si ce n'est pas toi qui les réalises). N'hésite pas à donner des conseils ou faire des propositions pour que les repas s'intègrent au mieux dans ton régime !!!

<b>J1</b> <b>SAMEDI</b>	<b>Heure</b> - début - fin	<b>Aliments &amp; Boissons</b>	<b>Quantités</b>	<b>Comment l' aliment est-il préparé ?</b>	<b>Où je mange, Et avec qui ?</b>	<b>En faisant quoi ? (T.V., livre...)</b>	<b>Humeur (Joyeux(se), triste, fatigué(e)...</b>
<b>Petit déjeuner :</b> Laitages Pain ou autre M. grasses Produits sucrés Boissons Autres							
<b>Grignotages</b>							
<b>Déjeuner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							
<b>Collations</b>							
<b>Dîner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							

<b>J2 DIMANCHE</b>	<b>Heure - début - fin</b>	<b>Aliments &amp; Boissons</b>	<b>Quantités</b>	<b>Comment l' aliment est-il préparé ?</b>	<b>Où je mange, Et avec qui ?</b>	<b>En faisant quoi ? (T.V., livre...)</b>	<b>Humeur (Joyeux(se), triste, fatigué(e)...</b>
<b>Petit déjeuner :</b> Laitages Pain ou autre M. grasses Produits sucrés Boissons Autres							
<b>Grignotages</b>							
<b>Déjeuner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							
<b>Collations</b>							
<b>Dîner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							

<b>J3 LUNDI</b>	<b>Heure - début - fin</b>	<b>Aliments &amp; Boissons</b>	<b>Quantités</b>	<b>Comment l' aliment est-il préparé ?</b>	<b>Où je mange, Et avec qui ?</b>	<b>En faisant quoi ? (T.V., livre...)</b>	<b>Humeur (Joyeux(se), triste, fatigué(e)...</b>
<b>Petit déjeuner :</b> Laitages Pain ou autre M. grasses Produits sucrés Boissons Autres							
<b>Grignotages</b>							
<b>Déjeuner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							
<b>Collations</b>							
<b>Dîner :</b> Entrée Plat principal M. grasses Laitage ou fromage Dessert Pain Sauces Boissons Autres							

## ABSTRACT

The increasing prevalence of early childhood overweight and obesity raises major public health issues with considerable risk consequences, especially on vascular health. Childhood obesity is associated with early signs of vascular dysfunction and with vitamin D (VD) deficiency status and cardiometabolic abnormalities. The main aim of the thesis was to study the effects of different programs of intervention in adolescents obese.

The first study aimed to determine the effects of a lifestyle intervention including 3 months of moderate continuous training (MCT) or high-intensity interval-training (HIIT), on health-related parameters and microvascular function in 29 obese adolescents. At baseline, obese adolescents had higher peak microcirculatory response. After 3 months, peak microcirculatory function remained unchanged after MCT and HIIT. Only basal cutaneous blood flow increased whatever the modality of exercise.

The second study (VIDADO), double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study, aimed to analyze the cardiometabolic and vascular effects of VD supplementation in a lifestyle program submitted to obese adolescents. Twenty-six obese adolescents (OA) and twenty-three normal-weight (NW) were enrolled and matched on age, gender and puberty stage. OA followed a 3-month weight-loss program combining a reduced caloric diet and interval training physical activity and were randomized into two groups: a VD supplemented (4000 IU/d) (n=13) group (OS) and non-supplemented (n=13) one (ONS).

At inclusion, 25(OH)D concentration was lower in OA than in NW. At baseline, VD insufficiency (25(OH)D levels < 50 nmol/L) was higher in OA (73%) than in NW (22%). All cardiometabolic factors of OA were impaired in comparison with NW. After the 3-month lifestyle intervention, all OS achieved adequate 25(OH)D levels > 50 nmol against only 46% for ONS. Intervention led to improve the cardiometabolic factors, inflammatory status and physical performance, but VD supplementation did not have an additional effect. OA displayed higher IMT but lower carotid compliance than controls. After three months, the changes of IMT were negatively correlated with the changes of 25(OH)D in OA displaying VD insufficiency at baseline. OA displayed preserved macrocirculation function but altered microcirculation function with decreased vascular conductance increase responses to ACh and SNP. Intervention led to improve ACh and SNP vascular conductance only in the VD-supplemented group. The delta change of 25(OH)D was significantly correlated with delta changes of peak ACh and peak SNP.

In conclusion, these results may yield promising interventional program including intensive, intermittent exercise and vitamin D supplementation.

Mots clés : childhood obesity / macrocirculation-microcirculation / exercice / vitamine

## RÉSUMÉ

La prévalence de l'obésité infantile est en augmentation constante et constitue un enjeu majeur de santé publique, justifiant la mise en place de stratégies de modification des modes de vie. L'obésité infantile est associée à des complications métaboliques et vasculaires, en relation avec le statut inflammatoire et stress oxydant, mais aussi à une insuffisance en vitamine D (VD). Ainsi, l'objectif général de ce travail de thèse a consisté à évaluer les effets de différents types de prises en charge chez des adolescents obèses hospitalisés pour perte de poids avec la comparaison de différentes modalités d'exercice et l'étude d'une supplémentation en vitamine D (VD).

Nous avons comparé la fonction microvasculaire de 29 adolescents obèses par comparaison avec 16 adolescents normo-pondérés et déterminer les effets d'une prise en charge de 3 mois associant diète et exercice soit modéré continu (MCT) soit intensif intermittent (HIIT) sur les paramètres de santé et la fonction microvasculaire chez 29 adolescents obèses. Les deux modalités de prise en charge (diète et MCT ou diète et HIIT) ont été aussi efficaces pour la perte de poids et de masse grasse et pour l'amélioration de la condition physique. Les paramètres de la fonction microvasculaire n'ont pas été modifiés, seules les valeurs de perfusion basale ont eu tendance à augmenter quel que soit le groupe suggérant un possible phénomène d'angiogénèse.

Les objectifs de l'étude VIDADO, étude interventionnelle randomisée contrôlée en double aveugle, ont été de vérifier l'effet additionnel/synergique d'une supplémentation en VD 1) sur les paramètres cardiométaboliques, 2) sur l'amélioration de la compliance artérielle et la diminution de l'épaisseur de l'intima-média de la carotide et 3) sur la fonction vasculaire macro- et microcirculatoire chez les adolescents obèses. Des adolescents obèses ont été randomisés en 2 groupes : l'un supplémenté en VD (n = 13) et l'autre non (n = 13). À l'inclusion, l'insuffisance en 25(OH)D était très élevée chez les adolescents obèses (73%) que chez les 23 adolescents normo-pondérés (22%). Tous les facteurs cardiométaboliques des adolescents obèses étaient altérés par rapport au normo-pondérés. Le diamètre carotidien et l'épaisseur de l'intima-média étaient respectivement plus faible et plus élevé chez des adolescents obèses. Les résultats de la macrocirculation ont montré une préservation de la fonction endothéliale et de la fonction musculaire lisse chez les adolescents obèses. Au niveau de la microcirculation, ils présentaient des valeurs plus faibles de la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh et de SNP. La concentration de 25 (OH) D n'était corrélée ni avec les données vasculaires ni à aucun marqueur inflammatoire. Après l'intervention de 3 mois, tous les adolescents obèses du groupe supplémenté ont atteint des taux adéquats de 25 (OH) D > 50 nmol, contre seulement 46% pour le groupe placebo. L'intervention a permis d'améliorer les facteurs cardiométaboliques, le statut inflammatoire et les performances physiques, mais la supplémentation en VD n'a pas eu d'effet supplémentaire. Les adolescents obèses ont présenté des réductions significatives de l'épaisseur intima-media tandis que la compliance artérielle carotidienne a augmenté sans différence entre les 2 groupes. A noter, les concentrations sériques delta 25OHD (%) étaient seulement corrélées négativement avec les valeurs delta de l'épaisseur intima-media (%). La conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh et de SNP a pu être améliorée dans le seul groupe supplémenté. La variation du statut en 25(OH)D était significativement corrélée avec la variation de la conductance vasculaire cutanée en réponse aux doses d'ACh et de SNP pour les deux groupes.

Les résultats de cette thèse semblent prometteurs pour mettre en place des stratégies sur les modes de vie, dont l'intérêt de sessions d'activités physiques adaptées intensives et intermittentes, et de la supplémentation en VD.

Mots clés : obésité infantile / macrocirculation-microcirculation / exercice / vitamine D