

**EXPRESSIONS PLASMATIQUE ET TISSULAIRE DES ADIPOCYTOKINES,
ADIPONECTINE, CHEMERINE ET VISFATINE, CHEZ LA DINDE
AU COURS D'UN CYCLE DE PONTE.**

**Diot Mélodie¹, Reverchon Maxime¹, Rame Christelle¹, Froment Pascal¹,
Brillard Jean-Pierre², Brière Sylvain³, Levêque Gérard³, Daniel Guillaume¹,
Dupont Joëlle¹.**

¹-INRA, UMR85, Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France, CNRS, UMR6175, F-37380 Nouzilly, France; Université François Rabelais, F-37041 Tours, France ; IFCE, F-37380 Nouzilly, France.

²- Fertilité et reproduction avicole (FERTIL'AVI), F-37360 Rouziers-de-Touraine, France

³-Hendrix Genetics-Grelier, F-49290 Saint Laurent de la Plaine, France.

jdupont@tours.inra.fr

RÉSUMÉ

Chez les mammifères, l'adiponectine, la chemerine et la visfatine sont des adipocytokines, sécrétées et exprimées en majorité par le tissu adipeux viscéral, qui régulent le métabolisme mais aussi la reproduction. Dans cette étude, nous avons étudié l'expression plasmatique des trois adipocytokines aux stades : entrée, pic et fin de ponte chez des dindes *Meleagris gallopavo* de souche lourde Converter. En fin de ponte, chez ces animaux, nous avons aussi analysé l'expression des messagers des différents gènes des adipocytokines et de leurs récepteurs au niveau de différents tissus ainsi qu'au niveau des cellules de la thèque (CT) et de la granulososa (CG) au cours de la maturation folliculaire. Par dosage ELISA nous avons mis en évidence que le taux plasmatique de ces hormones est diminué en fin de ponte par rapport au pic ou en début de ponte et est étroitement et négativement corrélé avec la glycémie tous stades confondus. La concentration plasmatique de la chemerine est également fortement corrélée négativement avec celle du cholestérol, des triglycérides et des phospholipides. Par RT-qPCR, les ARNm des adipocytokines ont été retrouvés dans différents tissus ainsi que dans les CT et les CG. La visfatine est plus exprimée dans les muscles que dans le tissu adipeux abdominal alors que la chemerine est plus exprimée dans le foie. L'adiponectine est plus exprimée dans le tissu adipeux. Les adipocytokines sont plus présentes dans les CT que dans les CG. En conclusion, les concentrations plasmatiques de ces trois adipocytokines varient au cours d'un cycle de ponte chez la dinde. La visfatine et la chemerine considérées comme des adipocytokines chez les mammifères restent à définir chez la volaille.

ABSTRACT

Plasma and tissue expressions of adipokines, adiponectin, chemerin and visfatin in turkey during a laying period.

In mammals, the adipokines named adiponectin, chemerin and visfatin are mainly expressed and secreted by visceral adipose tissue. They can regulate metabolism and reproductive functions. In this study, we have investigated the expression of plasma adipokines in different stages: start, peak and end of a laying period in turkey *Meleagris gallopavo* heavy strain Converter. At the end of egg-laying in these animals, we have also analyzed the expression of different messengers of adipokines in different tissues and cells (theca cells (TC) and granulosa cells (GC)) during the follicular maturation. Using an ELISA assay, we have demonstrated that the plasma levels of these hormones were reduced at the end of a laying period compared to the start and the peak. Moreover, plasma levels were also strongly correlated with glycemia at any stage considered. The chemerin plasma concentration was strongly negatively correlated with plasma cholesterol, triglycerides and phospholipids levels. Using RT-qPCR, the mRNA of these adipokines were found in different tissues and also in TC and in GC. Visfatin is more expressed in the muscles while chemerin is mainly expressed in the liver. Adiponectin is more expressed in adipose tissue. Adipokines are higher expressed in the TC than in the GC. In conclusion, the plasma concentrations of these three adipokines vary during a laying season in turkey. Visfatin and chemerin considered as adipokines in mammals need to be defined in poultry.

INTRODUCTION

Pendant longtemps, le tissu adipeux n'a été considéré que comme un tissu de stockage des lipides. Il est maintenant décrit comme un véritable organe endocrine capable de sécréter des molécules appelées adipocytokines (Kershaw et al, 2004). Chez les mammifères, les adipocytokines sont des hormones connues essentiellement pour réguler les fonctions du métabolisme (Kershaw et al, 2004) mais aussi la reproduction (Reverchon et al, 2014 (a)). On retrouve parmi les plus connues la leptine (Morris et al, 2009), l'adiponectine (Kadowaki et al, 2005) et l'omentine (Yang et al, 2006) mais de nouvelles molécules ont été caractérisées récemment comme la visfatine (Fukuhara et al, 2005) ou encore la chemerine (Roh et al, 2007).

Chez les oiseaux, comme chez les mammifères, les adipocytokines interviennent au niveau de différentes fonctions. Par exemple l'adiponectine et ses récepteurs spécifiques sont identifiés dans plusieurs tissus (Ramachandran et al, 2011) tandis que rien n'est encore connu en ce qui concerne la chemerine et ses récepteurs. La visfatine, quant à elle, a été retrouvée au niveau de différents tissus chez le poulet (Krzysik-Walker et al, 2008). Cependant, certaines ne sont pas retrouvées ou exprimées au niveau du génome : c'est le cas pour l'omentine (Resnyk et al, 2013) et la résistine. En ce qui concerne la leptine, plusieurs études se contredisent sur le fait que le gène aviaire de la leptine serait absent chez le poulet (Friedman-Einat et al, 1999 et Pitel et al, 2010) ou alors qu'il serait présent chez le pigeon (Friedman-Einat et al, 2014).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à trois adipocytokines : l'adiponectine qui existe sous forme de monomères et de multimères, la chemerine, une protéine de 16kDa, et la visfatine, une protéine de 52kDa qui n'a pas de récepteur encore connu à ce jour et qui est caractérisée comme une protéine insulino-mimétique (Krzysik-Walker et al, 2008). Comme aucune étude n'a été réalisée chez les dindes *Meleagris Gallopavo*, c'est donc en collaboration avec Hendrix Genetics (Saint Laurent de la Plaine, Maine et Loire) que nous avons cherché à mesurer, dans un premier temps, les niveaux plasmatiques des trois adipocytokines au cours d'un cycle de ponte pour pouvoir les relier à différents paramètres sanguins tels que la glycémie, la cholestérolémie ou encore au taux de phospholipides ou de triglycérides. Dans un second temps, la présence des messagers des trois adipocytokines a été recherchée au sein de différents tissus (cœur, foie, tissu adipeux, muscle pectoral, muscles de la patte, cellules ovariennes).

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Animaux

Quatre-vingt-huit dindes *Meleagris gallopavo* commerciales (souche lourde Converter) de chez Hendrix Genetics (Saint Laurent de la Plaine, France) ont été étudiées à trois stades différents de ponte : entrée (32 semaines d'âge), pic (35 semaines) et fin (55 semaines). A chaque stade, une pesée et une prise de sang ont été réalisées sur chaque animal à jeun. Le plasma obtenu après centrifugation a été congelé à -20°C jusqu'à utilisation. Au début et à la fin de ponte, cinq à six animaux ont été sacrifiés afin d'effectuer des prélèvements de divers tissus (tissu adipeux, grappe ovarienne, foie...).

1.2. Dosages des paramètres sanguins

1.2.1 Dosages biochimiques

Glycémie : Le kit GAGO-20 (Sigma Aldrich) est utilisé pour déterminer la concentration de glucose dans les plasmas de dinde.

Cholestérolémie : Le Kit Biolabo Cholestérol, CHOD-PAP (Biolabo, Maize, France) permet de quantifier le cholestérol total dans les plasmas de dinde.

Triglycérides : Nous avons utilisé le kit Biolabo Triglycérides, Méthode GPO pour doser le taux de triglycérides dans les plasmas de dindes.

Phospholipides : le kit utilisé est le kit Biolabo Phospholipides, méthode colorimétrique enzymatique.

1.2.2 Dosages des adipocytokines par ELISA

Des kits ELISA spécifiques aux adipocytokines de poulet, obtenus chez Hölzel Diagnostika (Köln Allemagne), ont été utilisés pour doser les concentrations plasmatiques de visfatine (sensibilité : 1ng/mL), d'adiponectine totale (sensibilité : 0.1ng/mL) et de chemerine (sensibilité : 1pg/mL) dans les plasmas de dinde.

1.3 Extraction des ARNm et RT-qPCR

Les ARN totaux des CG, des CT à différents stades folliculaires ainsi que du cœur, du tissu adipeux, du muscle pectoral, du muscle de la patte, du cortex et du foie ont été extraits avec du réactif TRIzol® selon les recommandations du fabricant (Invitrogen™ by Life technologies™, Villebon sur Yvette, France). Un traitement à la DNaseI utilisant le kit DNA-free™ (Ambion® by Life technologies™) a été effectué sur les ARN totaux puis la quantité d'ARN a ensuite été évaluée avec un spectrophotomètre. Afin de synthétiser des ADN complémentaires (ADNc) à partir des ARN totaux, une reverse transcription (RT) des ARN totaux (1µg) a été effectuée pendant 1 heure à 37°C dans un mélange de 20µL comme décrit précédemment (Coyral-Castel et al. 2010). Pour quantifier

ensuite l'expression des adipocytokines étudiées des qPCR ont été réalisées à partir des ADNc obtenus comme décrit précédemment après avoir testé l'efficacité (E) des amorces utilisées. E est obtenue à partir de plusieurs dilutions d'un pool d'ADNc et est comprise entre 1,9 et 2,0. Pour cela, les ADNc ont été amplifiés par qPCR en utilisant du SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) et 250 nM d'amorces spécifiques (Invitrogen™ by Life technologies™) comme décrit précédemment (Coyral-Castel et al. 2010). Les échantillons ont été testés en duplicat sur la même plaque et une amplification avec de l'eau a été réalisée en tant que contrôle négatif. Les qPCR ont été réalisées sur le système MyiQ Cyclor (Bio-Rad) : les échantillons ont d'abord été dénaturés (3 minutes à 95°C) puis amplifiés en 40 cycles (dénaturation de 30 secondes à 95°C, hybridation pendant 30 secondes à 60°C et élongation de 30 secondes à 72°C).

Les amorces utilisées sont celles de la visfatine, de la chemerine, de l'adiponectine. Nous avons aussi réalisé des qPCR avec deux gènes de référence : RPL-15 et EF1- α , tous deux invariants dans les tissus étudiés (séquences cf Tableau 1). Pour les échantillons testés, les valeurs de CT des adipocytokines ont été comparées aux valeurs des moyennes géométriques des CT de chaque échantillon testé pour les deux gènes de référence (EF1- α et RPL15). Ainsi, le ratio (R) calculé permet de connaître l'expression relative des adipocytokines testés par rapport aux gènes de référence. $R = (\text{puissance de E du gène étudié} - \text{CT gène étudié}) / (\text{puissance de E du gène de référence} - \text{moyenne géométrique des CT des gènes de référence})$.

1.4. Extraction de protéines et western-blot

Les protéines ont été extraites par lyse cellulaire à froid avec du tampon de lyse comme décrit précédemment (Coyral-Castel et al, 2010) et dosées à l'aide d'un kit BCA (bicinchonic acid assay). Quarante-vingt microgrammes de protéines ont ensuite été dénaturées et soumis à une électrophorèse dans un gel SDS-polyacrylamide 12% puis transférés sur une membrane de nitrocellulose et incubés avec des anticorps spécifiques, couplés à la HRP, à 4°C durant une nuit comme décrit précédemment (Coyral-Castel et al. 2010). Les anticorps dirigés contre les adipocytokines sont des anticorps polyclonaux provenant du lapin. L'anticorps dirigé contre la vinculine (protéine de référence) provient de la souris. La révélation des protéines a été réalisée par chemiluminescence grâce au réactif ECL qui est un substrat de la HRP (enhanced Chemiluminescence, Western Lightning Plus-ECL, Perkin Elmer, Courtaboeuf, France) à l'aide de la caméra Gbox (Ozyme). Le logiciel Gene Snap permet de détecter le signal émis et le logiciel GeneTools de le quantifier.

1.5. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été analysés avec le logiciel Statview pour déterminer si les différences observées entre les moyennes de chaque condition sont significatives ou non. Pour cela, une analyse de variance (test ANOVA) avec un niveau de significativité inférieur à 5 % ($p < 0.05$) a été effectuée suivi d'un test post-hoc (Test de Fisher).

Pour déterminer une éventuelle corrélation entre les différentes concentrations plasmatiques de glucose, de cholestérol, de triglycérides et de phospholipides et entre les concentrations en adipocytokines, les résultats ont été analysés par le logiciel SAS afin d'établir des matrices de corrélations entre les différents paramètres avec des coefficients de corrélations de Pearson.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Etudes des paramètres plasmatiques et des adipocytokines au cours d'un cycle de ponte

Par différents dosages biochimiques, les concentrations plasmatiques en glucose, cholestérol, phospholipides et en triglycérides ont été quantifiées au cours d'un cycle de ponte. Si le poids des individus diminue de façon significative au cours d'un cycle de ponte (de 12,462 kg lors de l'entrée à 12,009 kg en fin de ponte), la glycémie augmente contrairement à la cholestérolémie qui ne varie pas. Les taux de triglycérides et de phospholipides plasmatiques, diminuent principalement en fin de ponte.

Dans un second temps, les concentrations plasmatiques de l'adiponectine, de la visfatine et de la chemerine ont été déterminées par dosage ELISA au cours d'un cycle de ponte chez des dindes. En parallèle, les quantités d'adiponectine (monomère de 30 kDa) et de visfatine au niveau du plasma ont été déterminées par western-blot.

La concentration plasmatique totale de l'adiponectine mesurée par ELISA ne varie pas entre l'entrée en ponte et le pic de ponte mais diminue à la fin de ponte. La même observation peut être faite par la technique de western-blot en conditions dénaturantes : l'adiponectine diminue lors du stade fin de ponte. Par contre pour la chemerine, la concentration plasmatique diminue dès le stade pic de ponte et continue de baisser jusqu'en fin de ponte.

Comme pour l'adiponectine, la quantité de visfatine contenue dans le plasma a été déterminée par dosage ELISA et quantifiée par western-blot. Sa concentration plasmatique diminue lors d'un cycle de ponte. En western-blot, aucune différence significative n'est observée entre les différents stades qui composent un cycle de ponte. Cette absence de différence significative peut probablement s'expliquer par le faible nombre d'échantillons ($n=5$ par stades).

2.2. Corrélations entre les concentrations des adipocytokines et les différents paramètres plasmatiques sanguins au cours d'un cycle de ponte

Pour vérifier si les concentrations obtenues en adipocytokines sont corrélées avec celles des différents paramètres sanguins étudiés, un test des coefficients de corrélations de Pearson a été effectué. Avec les matrices obtenues tous états confondus, les trois adipocytokines sont fortement et négativement corrélées avec le poids mais aussi avec la glycémie au cours d'un cycle de ponte.

Lorsque la glycémie augmente, les concentrations plasmatiques de l'adiponectine, de la chemerine et de la visfatine diminuent et inversement. De plus, il apparaît que la chemerine plasmatique est aussi fortement corrélée de manière négative avec les autres paramètres : cholestérol, triglycérides et phospholipides alors qu'aucune différence significative n'est observée pour l'adiponectine et la visfatine avec ces trois paramètres sanguins.

2.3. Expressions des adipocytokines dans différents tissus chez des dindes en fin de ponte

Pour caractériser les adipocytokines et étudier leur expressions au niveau des messagers, des RT-qPCR ont été réalisées au niveau de différents tissus tels que le cœur, le foie, le tissu adipeux et deux muscles squelettiques (muscle pectoral et muscle de la patte) puis au niveau du follicule ovarien (cellules de la thèque et de la granulosa).

Le messenger de la visfatine est plus exprimé au niveau des muscles et notamment du muscle pectoral. Par contre, celui de la chemerine est beaucoup plus exprimé au niveau du foie tandis que l'expression du messenger de l'adiponectine est plus forte dans le tissu adipeux. Au niveau des cellules ovariennes, tous les gènes étudiés sont plus exprimés dans les cellules de la thèque que dans les cellules de la granulosa. Au cours de la maturation folliculaire entre les follicules F1 (le plus mature) et F3/4 (les plus différenciés), aucune différence au niveau des cellules de la thèque et de la granulosa n'a été constatée pour aucun des gènes d'intérêts.

2.4. Discussion

Chez la dinde, notre étude a montré, pour la première fois, que les concentrations plasmatiques en adiponectine, chemerine et visfatine diminuent en fin de ponte par rapport au pic ou en début de ponte. Avec une concentration de l'ordre de 20 à 25 $\mu\text{g/mL}$, les dindes ont une plus forte adiponectinémie que les poulets (4 à 10 $\mu\text{g/mL}$ à 8 semaines) (Ramachandran et al, 2013). Chez l'homme sain, l'adiponectinémie varie entre 5 et 30 $\mu\text{g/mL}$ (Reverchon et al, 2013(a)). Ainsi, chez la volaille comme chez l'homme, l'adiponectine est une protéine très représentée au niveau des protéines plasmatiques.

Contrairement à la visfatine, l'adiponectine existe sous différentes formes moléculaires : forme monomérique ou multimérique que l'on peut classer en haut, moyen, et bas poids moléculaire. Chez l'homme et la volaille, c'est la forme de haut poids qui est majoritairement présente et active au niveau plasmatique (Hara et al, 2006, Hendricks III et al, 2009). Le kit ELISA utilisé lors de cette étude nous a permis de mesurer toutes les formes de l'adiponectine. Par western-blot, nous avons quantifié uniquement le monomère à 30kDa. Nos données montrent des résultats identiques quelle que soit la forme mesurée. Cependant il serait bon de mesurer uniquement les taux plasmatiques des hauts poids moléculaires. Concernant la visfatine, nous avons observé une concentration plasmatique beaucoup plus forte (de 50 à 140 ng/mL) que celle décrite jusqu'ici chez les mammifères (2 à 10 ng/mL (Araki et al, 2008)). Enfin, la concentration de chemerine que nous avons mesurée est relativement faible (14-18 ng/mL) comparée à celle décrite chez les mammifères qui est de l'ordre de 100-200 ng/mL (Reverchon et al, 2014 (b)). Cependant comme l'adiponectine, la chemerine peut être présente sous différentes formes au niveau du plasma. En effet, la chemerine circule sous sa forme inactive, la prochemerine, qui est ensuite clivée par différents carboxypeptidases sous différentes formes. Comme pour l'adiponectine il serait intéressant d'étudier les variations de chacune de ces formes au cours d'un cycle de ponte. En ce qui concerne les métabolites sanguins, nous avons montré que la glycémie et les taux plasmatiques de triglycérides et de phospholipides variaient au cours d'un cycle de ponte. En effet, la glycémie augmente au cours du cycle de ponte, tandis que les taux de triglycérides et de phospholipides diminuent notamment en fin de ponte. En ce qui concerne le cholestérol, aucune différence n'est observée. Les concentrations observées de ces métabolites chez la dinde sont similaires à celles déjà décrites chez la poule pondeuse (Chen et al, 2011). Les taux plasmatiques des trois adipocytokines sont étroitement et négativement corrélés avec la glycémie: quand la glycémie augmente au cours du cycle de ponte comme il l'a été constaté, les concentrations des trois adipocytokines diminuent.

Chez ces animaux, la chemerine est aussi fortement corrélée négativement avec les autres paramètres sanguins (cholestérol, phospholipides et triglycérides). Les résultats concernant le cholestérol sont cohérents par rapport à ceux décrits chez les mammifères. En effet, chez ces derniers au niveau plasmatique, la chemerine est corrélée négativement avec le cholestérol (Wang et al, 2013).

Chez les dindes, dans les différents tissus étudiés, les ARNm de l'adiponectine, de la chemerine et de la visfatine sont exprimés y compris dans deux types cellulaires : les cellules de la granulosa et de la thèque. Le messenger de la visfatine est nettement plus exprimé dans les muscles, notamment le pectoral. Si

la visfatine est considérée par beaucoup comme une adipocytokine chez les mammifères (Fukuhara et al, 2005), il se pourrait que, chez la volaille, cette dernière soit plutôt une « myokine » qu'une adipocytokine. Ce résultat est en accord avec une précédente étude où il a été observé que la visfatine est majoritairement exprimée dans le muscle chez le poulet (Krzysik-Walker et al, 2008). En ce qui concerne l'adiponectine, celle-ci est plus exprimée au niveau du tissu adipeux, ce qui est en accord avec une précédente étude de Ramachandran et al de 2013. De plus, chez les mammifères l'adiponectine est aussi abondamment exprimée au niveau de ce tissu (Kadowaki et al, 2005). Dans notre étude, nous avons montré pour la première fois la présence de la chemerine au niveau de différents tissus chez la dinde et principalement au niveau du foie. Ces résultats sont en adéquation avec des données observées chez les mammifères (Roh et al, 2007). Pour compléter l'étude et mieux comprendre ces résultats, il faudrait analyser les niveaux de protéines de ces différentes molécules. Cependant, si l'adiponectine, la chemerine et la visfatine sont considérées comme des adipocytokines chez les mammifères, les messagers de la visfatine et de la

chemerine ne sont pas majoritairement exprimés par le tissu adipeux chez la volaille mais par les muscles (visfatine) et le foie (chemerine). Au niveau des cellules ovariennes, toutes les adipocytokines étudiées sont surtout exprimées dans les cellules de la thèque par rapport aux cellules de la granulosa.

CONCLUSION

En conclusion, ces résultats préliminaires montrent pour la première fois que l'adiponectine, la visfatine et la chemerine sont exprimées chez les dindes et que leurs concentrations plasmatiques diminuent en fin de ponte. D'autre part, ces adipocytokines sont présentes dans différents tissus et types cellulaires. La visfatine et la chemerine considérées comme des adipocytokines chez les mammifères restent à définir chez la volaille.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le projet région Centre Adipofertikines (32000407).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Araki S., Dobashi K., Kubo K., Kawagoe R., Yamamoto Y., Kawada Y., Asayama K. & Shirahata A., 2008. *Obesity* 16, 384–388.
- Chabrolle C., Tosca L., Crochet S., Tesseraud S. & Dupont J., 2007. *Domestic Animal Endocrinology* 33 480–487.
- Chen WL., Wei HW., Chiu WZ., Kang CH., Lin TH., Hung CC., Chen MC., Shieh MS., Lee CC. & Lee HM., 2011. *Eur J Pharmacol.* 5:671(1-3):107-12.
- Coyral-Castel S., Ramé C., Fatet A., Dupont J., 2010. *Domest Anim Endocrinol* 38 272-28.
- Friedman-Einat M., Boswell T., Horev G., Girishvarma G., Dunn IC., Talbot RT. & Sharp PJ., 1999. *General and Comparative Endocrinology* 115, 354–363.
- Friedman-Einat M., Cogburn LA., Yosefi S., Hen G., Shinder D., Shirak A. & Seroussi E., 2014. *Endocrinology* 10.1210/en.2014-1273.
- Fukuhara A., Matsuda M., Nishizawa M., Segawa K., Tanaka M., Kishimoto K., Matsuki Y., Murakami M., Ichisaka T., Murakami H., Watanabe E., Takagi T., Akiyoshi M., Ohtsubo T., Kihara S., Yamashita S., Makishima M., Funahashi T., Yamanaka S., Hiramatsu R., Matsuzawa Y. & Shimomura I., 2005. *Science* Vol 307 : 426-430.
- Hara K., Horikoshi M., Yamauchi T., Yago H., Miyazaki O., Ebinuma H., Imai Y., Nagai R. & Kadowaki T., 2006. *Diabetes Care*; 29(6):1357-62.
- Hendricks III GL., Hadley JA., Krzysik-Walker SM., Prabhu KS., Vasilatos-Younken R. and Ramachandran R., 2009. *Endocrinology* 150:3092–3100.
- Kadowaki T. and Yamauchi T., 2005. *Endocrine Reviews* 26(3):439–451.
- Kershaw E & Flier JS., 2004. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(6):2548–2556.
- Krzysik-Walker SM., Oco'n-Grove OM., Maddineni SR., Hendricks III GL. & Ramachandran R., 2008. *Endocrinology* 149(4):1543–1550.
- Morris DL. & Rui L., 2009. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297(6): E1247–E1259.
- Pitel F., Faraut T., Bruneau G. & Monget P., 2010. *Endocrinology* 167 1–5.
- Ramachandran R., Maddineni S., Oco'n-Grove O., Hendricks III G., Vasilatos-Younken R. & Hadley JA., 2013. *General and Comparative Endocrinology* 190 88–95.
- Resnyk CW., Carré W., Wang X., Porter TM., Simon J., Le Bihan-Duval E., Duclos MJ., Aggrey S. & Cogburn LA., 2013. *BMC Genomics*, 14:557.
- Reverchon M., Maillard V., Froment P., Ramé C. & Dupont J., 2013. *Médecine/sciences*; 29 : 417-24.
- Reverchon M., Ramé C., Bertoldo M. & Dupont J., 2014 (a). *International Journal of Endocrinology*. Volume 2014, Article ID 232454.
- Reverchon M., Bertoldo M., Ramé C., Froment P. & Dupont J., 2014 (b). *Biol Reprod*; 90(5):102.

Roh SG., Song SH., Choi KC., Katoh K., Wittamer V., Parmentier M. & Sasaki SI., 2007. Biochemical and Biophysical Research Communications 362 1013–1018.

Wang D., Yuan GY., Wang XZ., Jia J., Di LL., Yang L., Chen X., Qian FF. & Chen JJ., 2013. Genetics and Molecular Research 12 (4): 5986-5991.

Yang RZ., Lee MJ., Hu H., Pray J., Wu HB., Hansen BC., Shuldiner AR., Fried SK., McLenithan JC. & Gong DW., 2006. Am J Physiol Endocrinol Metab 290: E1253–E1261.

Tableau 1. Amorces utilisées en RT-qPCR

Gènes		Numéro d'accension	Séquence	Position
Visfatine	Sens	XM_010723432.1	5'-GCTTCAGCCCATTGGTGA-3'	694-712
	Anti-sens		5'-ATCCCGGAACTGGATCTTTTG-3'	790-770
Chemerine	Sens	NM_001277476.1	5'-CGCGTGGTGAAGGATGTG-3'	153-170
	Anti-sens	XM_01076983.1	5'-CGACTGCTCCCTAAAGAGGAACT-3'	57-39
Adiponectine	Sens	XM_010716497.1	5'-ACAGGTGCAGAAGGACCGAG-3'	740-759
	Anti-sens		5'-AAGACAGAGCCGCTTGCTTG-3'	1089-1070
RPL15	Sens	XM_010712863.1	5'-TGTGATGCGTTTCCTCCTTGG-3'	84-100
	Anti-sens		5'-CCATAGGTTGCACCTTTTGGG-3'	276-256
EF1 α	Sens	XM_003204404.2	5'-TGACATGAGACAGACGGTTGC-3'	1361-1381
	Anti-sens		5'-AGCAGACTTTGTGACCTTGCC-3'	1445-1425

Tous les numéros d'accension renvoient aux gènes chez la dinde *Meleagris gallopavo* sauf pour la chemerine (amorces sens). L'amorce sens de la chemerine est identifiée chez la poule *Gallus gallus*. La chemerine de dinde *Meleagris gallopavo* et la chemerine de poule *Gallus gallus* partagent un fort degré d'identité (93%).