



HAL
open science

Impact de la qualité des protéines et des lipides du régime de renutrition sur la composition en acides gras, la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation, chez les rats âgés Wistar souffrant de malnutrition

Hassina Ould Hamouda

► **To cite this version:**

Hassina Ould Hamouda. Impact de la qualité des protéines et des lipides du régime de renutrition sur la composition en acides gras, la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation, chez les rats âgés Wistar souffrant de malnutrition. Biologie cellulaire. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. NNT : 2015PA11T019 . tel-01297046

HAL Id: tel-01297046

<https://theses.hal.science/tel-01297046>

Submitted on 4 Jul 2017

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.

UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 419 : BIOSIGNE

Laboratoire: Neuroendocrinologie moléculaire de la prise alimentaire (NMPA)
Institut des Neurosciences Paris-Saclay

THÈSE DE DOCTORAT SUR TRAVAUX

SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

par

Hassina OULD HAMOUDA

Impact de la qualité des protéines et des lipides du régime de renutrition sur la composition en acides gras, la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation, chez les rats âgés Wistar souffrant de malnutrition.

Date de soutenance : **01/04/2015**

Composition du jury :

Directeur de thèse : Mohammed TAOUIS Pr Externe. UMR 9197 CNRS
Co-directeur de thèse : Bernadette DELPLANQUE Dr Inserm UMR 9197

Rapporteurs : Philippe GUESNET Dr. PDG de PG Consulting
Stéphane WALRAND Dr. Directeur de Recherche UMR1019

Examineurs : Cécile BONHOMME Dr. Responsable coordination scientifique (Lactalis Nutrition).
Jean-Charles MARTIN Dr. Chargé de Recherches en nutrition .UMR, INRA 1260.

RESUME DU TRAVAIL DE THESE

La malnutrition liée au vieillissement est souvent accompagnée de nombreux dérèglements et dysfonctionnements métaboliques, notamment la perturbation de l'homéostasie énergétique (caractérisée par l'installation de l'insulinorésistance), la fragilité, la diminution de la masse musculaire et les troubles de la réponse immunitaire. Ainsi, la manipulation nutritionnelle, au cours du vieillissement, est considérée comme l'une des solutions possible pour prévenir ces troubles, les traiter et limiter leurs dommages. Parmi les substances nutritives qui ont été largement étudiées, la composition en protéines (ou acides aminés), la qualité des lipides (AGPI n-3) et les vitamines. En dépit de ces études qui tentent de réduire la malnutrition, en améliorant l'alimentation par des suppléments nutritionnelles chez l'homme, il est également nécessaire d'étudier l'impact des différentes combinaisons d'apports «naturels» en protéines et en lipides (quantité et qualité) ainsi qu'en micronutriments (vitamine D) à partir de modèles animaux tels que le rat âgé.

L'objectif de cette thèse consiste à déterminer l'impact de la dénutrition et d'évaluer le potentiel d'une des formules de réalimentation contenant un mélange à haute teneur en protéines solubles du lait, associées à de la matière grasse laitière, enrichie en acides gras polyinsaturés de la famille omega 3 (précurseur ALA et DHA) et en vitamine D, chez des rats âgés préalablement soumis à une restriction alimentaire.

Dans un premier temps, nous avons évalué l'impact de différents régimes alimentaires au cours de la période de renutrition sur la composition en acides gras (AG) du plasma, des globules rouges et du cerveau chez des rats âgés restreints, ainsi que ses conséquences sur les marqueurs du statut inflammatoire. Nos résultats montrent que, d'une part, la restriction alimentaire de trois mois, bien que non totalement carencée en ALA, induit une perte importante en omega3 (ALA et dérivés LCn-3) alors que le dérivé ARA de la série n-6 est peu modifié, conduisant ainsi à une élévation du statut pro-inflammatoire exprimé sous forme d'une augmentation du ratio ARA/LCn-3. D'autre part, nous avons montré que quatre semaines de réalimentation, notamment avec la formule contenant le mélange matière grasse laitière, colza et DHA, associé à de la caséine ou des protéines solubles du lait, restaure 1/ les valeurs de DHA du cerveau non restaurées par un régime contrôle de renutrition, 2/ augmente les valeurs des dérivés LCn-3 (EPA, DHA) à des niveaux supérieurs à ceux d'un régime contrôle de renutrition et à celles observées chez des rats âgés contrôles non dénutris. Cette augmentation s'accompagne d'une réduction des valeurs d'ARA, induisant une baisse drastique dans le plasma et les globules rouges du ratio ARA/EPA, un des marqueurs du statut pro-inflammatoire. Ces formules montrent pour la première fois qu'elles peuvent induire une réduction très importante du statut inflammatoire par rapport à celui observé généralement chez les vieux rats et pourrait donc présenter un intérêt beaucoup plus général en prévention des pathologies associées au vieillissement, liées ou non à la dénutrition.

Dans un second temps, nous avons déterminé, chez des rats âgés restreints, l'impact de différents régimes alimentaires au cours de la période de renutrition sur la réponse hépatique à l'insuline, l'expression de gènes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique. Les résultats de cette étude montrent que la restriction alimentaire de trois mois entraîne 1/ une augmentation de l'expression du récepteur à l'insuline dans l'hypothalamus, le foie et le tissu adipeux, accompagnée d'une augmentation du facteur pro-inflammatoire TNF α dans l'hypothalamus. Cependant, la réalimentation de quatre semaines entraîne 2/ un gain de poids similaire et maintient l'insulinosensibilité hépatique. En effet, nous avons montré, pour la première fois, qu'une réalimentation avec les régimes comportant le mélange MGLA/colza/DHA, permettrait 3/ d'augmenter la prise alimentaire et de diminuer l'inflammation hypothalamique, notamment, avec la formule complète contenant un mélange de haute teneur en protéines solubles de lait, associée à la matière grasse laitière /colza/DHA et enrichie en vitamine D.

Notre étude suggère qu'il pourrait y avoir un réel bénéfice à une réalimentation avec un mélange de (PSL, MGLA, Colza, DHA et vitamine D) pour assurer un vieillissement «réussi».

Mots-clés: homéostasie énergétique, prise alimentaire, insulinorésistance, statut inflammatoire, acide arachidonique (ARA), protéines solubles de lait (PSL), matière grasse laitière (MGLA), colza, DHA, vitamine D.

ABSTRACT OF THE THESIS WORK

Malnutrition related to aging is often accompanied by many metabolic disorders, including the disruption of energy homeostasis (characterized by the provision of insulin resistance), fragility, decreased muscle mass and immune response deficiency. Thus, the nutritional manipulation, during aging, is considered to be a solution to prevent these disorders or to treat and limit damages. Amongst the nutrients that have been widely studied, we find the quality of proteins (or amino acids), of lipids (n-3 PUFA) and vitamins. Despite these studies that attempt to reduce malnutrition, by improving diet with nutritional supplementation in humans, it is also necessary to study the impact of different combinations of “natural” intake of protein and Fat (quantity and quality) as well as micronutrients (vitamin D) by using animal models such as the aged rat.

The aim of this thesis is to determine the impact of undernutrition and assess the potential of the refeeding formulas containing a high content of soluble protein of milk, associated with milk fat enriched with omega3 polyunsaturated fatty acids (ALA precursor and DHA) and vitamin D in old rats previously submitted for food restriction.

As a first step, we assessed the impact of different diets during the refeeding period on the fatty acid (FA) of the plasma, red blood cells and brain in aged rats restricted and its consequences on markers of inflammatory status. On the one hand, our results showed that the dietary restriction of three months, despite being only moderately ALA deficient, induced a drastic loss omega3 (ALA and derivatives LCn-3), whereas a weak increase of ARA derived from n-6 series is observed, leading to a rise of the pro-inflammatory state expressed as an increase in the ratio ARA / LCn-3. On the other hand, we have shown that the four-week-refeeding formulas containing a blend of dairy-fat, rapeseed and DHA associated with casein or milk soluble proteins, restored 1 / DHA values of the brain not previously restored by the refeeding control diet, 2 / increased the values of derivatives LCn-3 (EPA, DHA) to levels above those obtained with the control refeeding diet and above those observed in old control rats before denutrition. This increase was accompanied by a reduction in ARA values, leading to a drastic drop in plasma and red blood cells ratio ARA / EPA, a marker of the pro-inflammatory status. These formulas show for the first time that they can induce a very significant reduction of inflammatory status compared to that usually seen in old rats and could therefore present a more general interest in prevention of ageing diseases associated or not to undernutrition.

In a second step, we determined, in restricted aged rats, the impact of different diets during the refeeding period on the hepatic response to insulin, the expression of genes involved in the regulation of energy homeostasis as well as hypothalamic inflammation. The results of this study indicate that dietary restriction of three months resulted 1/increased expression of the insulin receptor in the hypothalamus, liver and adipose tissue, accompanied by an increase of the proinflammatory factor TNF in the hypothalamus. However, the four-weeks-refeeding produces 2/ a similar weight gain and maintains hepatic insulin sensitivity. Indeed, we showed, for the first time, that refeeding, with diets containing the blend of dairy-fat / rapeseed / DHA, would 3/ increase food intake and decrease the hypothalamic inflammation, especially with the full formula containing a mixture of high content of soluble milk proteins, associated with dairy-fat / rapeseed / DHA fortified with vitamin D.

Our study suggest that there could be real benefits of refeeding with a mixture of (MSP, dairy fat, rapeseed, DHA and vitamin D) for ensure a “successful” aging.

Mots-clés: energy homeostasis, food intake, insulin resistance, inflammatory status, arachidonic acid (ARA), milk soluble proteins (MSP), fat dairy, rapeseed, DHA, vitamin D.

Articles publiés dans des revues internationales à comité de lecture :

Ould Hamouda H, Chen P, Levoye A, Sözer-Topçular N, Daulat AM, Guillaume JL, Ravid R, Savaskan E, Ferry G, Boutin JA, Delagrance P, Jockers R, Maurice P. Detection of the human GPR50 orphan seven transmembrane protein by polyclonal antibodies mapping different epitopes. *Journal of Pineal Research. J Pineal Res.* (2007). 43(1):10-5.

Charlotte Benoit¹, **Hassina Ould-Hamouda**, Delphine Crepin, Arieh Gertler, Laurence Amar and Mohammed Taouis. Early leptin blockade predisposes fat-fed rats to overweight and modifies hypothalamic microRNAs. *Journal of Endocrinology* (2013) 218, 35–47

Yacir Benomar, Arieh Gertler, Pam De Lacy, Delphine Crépin, **Hassina Ould Hamouda**, Mohammed Taouis. Central Resistin Overexposure Induces Insulin Resistance through Toll-Like Receptor 4. *Diabetes* (2013). 62(1):102-14.

Articles soumis à des revues internationales à comité de lecture :

Ould-Hamouda H, Delplanque B*, Rosique C, Tassistro V, Bonhomme C, Le Ruyet P, Taouis M, Martin JC. Impact of denutrition and lipid quality for rapid restoration of tissue fatty-acids and inflammatory FA markers in old rats. Soumis dans *Plefa*.

Hassina OuldHamouda, Bernadette Delplanque, Yacir Benomar, Delphine Crépin, Laure Riffault, Pascale LeRuyet, Cécile Bonhomme, Mohammed Taouis. Milk soluble formula increased food intake and reduced IL6 expression in old rats hypothalamus. Soumis dans *Journal of Endocrinology*.

A Vava
Que dieux ait son âme

Remerciements

J'adresse mes plus sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury qui me font l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail de thèse :

*Monsieur **Michael SCHUMACHER** pour l'intérêt qu'il a manifesté pour mes travaux en acceptant de présider ce jury ;*

*Messieurs **Philippe GUESNET** et **Stéphane WALRAND**, sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, en acceptant d'être rapporteurs et ceci en dépit de vos charges, je vous prie de croire en ma profonde reconnaissance;*

*Madame **Cécile BONHOMME** et Monsieur **Jean charl MARTIN**, Pour l'attention que vous avez portée à ce travail et pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'être examinateur malgré vos nombreuses charges, recevez ici l'expression de mon profond respect.*

Je remercie tout particulièrement mes encadrants de thèse:

*Monsieur **Mohammed TAOUIS** pour tout ce qu'il m'a apporté depuis mon recrutement (en qualité d'AI) au sein du laboratoire, aussi bien sur le plan scientifique qu'humain. Merci pour la confiance que vous m'avez témoignée, de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche et pour m'avoir soutenu et guidé scientifiquement durant toutes ces années, toujours avec gentillesse, compréhension et respect.*

*Madame **Bernadette DELPLANQUE**, pour votre encadrement, disponibilité, conseil, patience et financement durant ces années. Merci pour chaque fois vous avez écouté mes arguments et considéré mon opinion et de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche en lipides. Merci d'avoir apprécié ma vie personnelle et d'être ma mère spirituelle, merci d'avoir fait confiance en moi et en mes capacités et de m'avoir soutenue durant ces années. J'espère qu'un jour, je pourrais être aussi enthousiaste et énergique que vous.*

Je suis fier du chemin accompli au côté de mes encadrants. Je vous serai toujours reconnaissante.

Je remercie également tous les membres de l'équipe Neuroendocrinologie moléculaire de la prise alimentaire pour leur accueil chaleureux, leur sympathie et leur soutien tout au long de ces années.

*Merci, **Yacir**, pour ta gentillesse, ta disponibilité, tes remarques, tes conseils bien appréciés, ton aide précieuse, ta rigueur scientifique et de m'avoir fait partager tes connaissances techniques et intellectuelles.*

*Merci **Claire-Marie**, **Anne** et **Laurence** pour vos conseils et critiques scientifiques. **Claire-Marie**, pour ta présence permanente parmi nous, ta gentillesse, toutes nos conversations et ton soutien permanent.*

*Merci **Delphine**, **Laure** et **Alain** pour votre disponibilité et vos aides techniques précieuses dans certaines expériences.*

*Merci **Joel** pour ton aide précieuse pour l'entretien des animaux,*

Je remercie tous les étudiants en M2 et thésards présents et passés :

***Soraya**, **Charlotte**, **Odile**, **Ioanis**, **Stéphane**, **Hamza**, **Flavien**, **Nicolas**, **Ahlèm**, **Sarah** pour tous les cafés, repas, discussions, manips, rires et invitations....partagés ! Sans oublier **Ayman** pour son aide précieuse en informatique et tous **mes amis(e)** pour leurs soutiens.*

Un remerciement très spécial à toute ma famille et plus particulièrement

A Yema qui m'a toujours écouté et soulagé dans mes moments de solitude et de faiblesse et qui était toujours fière de moi, même pour la simple réussite. Ta motivation et ton support constants étaient mon énergie. Le simple fait d'entendre ta voix m'a toujours calmée, réconfortée et fait sentir que tout ira bien.

Merci mes frères, mes sœurs, mes beaux-frères, mes belles sœurs et mes beaux-parents. Malgré la distance qui nous a séparés, j'ai toujours senti votre soutien et votre amour.

Je remercie également ma tante MEKIOUSSA et Kfali de m'avoir accueillie chaleureusement en France et pour leur soutien et leur aide. Je vous serai toujours reconnaissante.

*Un remerciement très précieux à mon époux Mohammed « MOHANN »,
la personne qui m'a accompagnée depuis le début.*

Sans toi, je n'aurai même pas commencé mon Ph.D. et sans toi, je ne serai pas arrivée à la fin!

Je te remercie pour chaque moment quand tu as toléré ma folie, mes inquiétudes, mes occupations. Tu as été d'une patience et d'un soutien incroyable. Tu étais toujours à l'écoute. Merci pour tous les beaux moments que tu m'as accordés. Je te remercie pour chaque fois tu m'as forcée à prendre la prochaine étape! Merci pour le temps que tu as consacré à la correction de ce manuscrit, de ton support inconditionnel, d'avoir été l'équilibre et la paix de ma vie.

Merci pour ton amour «sans frontières» et tout le bonheur que tu m'apportes.

Enfin merci à ceux qui auront fait l'effort de lire ces remerciements jusqu'au bout...

TABLE DES MATIERES

RESUME	I
LISTE DES PRINCIPALES ABBREVIATIONS	II
LISTE DES FIGURES	III
LISTE DES TABLEAUX	IV
1/ INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE	1
I/ Épidémiologie du vieillissement.....	1
I-1/ Définitions du vieillissement.....	3
I-2/ Modes de vieillissement.....	4
I-3/ Mécanismes à l'origine du vieillissement.....	5
I-3- 1/ <i>La glycation non enzymatique des protéines</i>	5
I-3-2/ <i>Le stress oxydatif</i>	6
I-3-3/ <i>Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)</i>	7
I- 4/ <i>Les antioxydants</i>	8
I-5/ Déséquilibre de la balance redox liée au vieillissement.....	9
I-6/ Effets du vieillissement sur l'organisme.....	11
II/ Le vieillissement et métabolisme.....	13
II-1/ Homéostasie glucidique.....	13
II-2/ Signalisation de l'insuline.....	14
II-3/ Signalisation du récepteur de l'insuline.....	16
II-3-1/ Les voies de signalisation induites par l'insuline.....	16
A/ La voie IRS/PI3K/Akt.....	16
A-1/ Les insulins receptor substrates (IRS).....	16
A-2/ La phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K).....	16
A-3/ Akt ou protéine kinase B (PKB).....	16
B/ La voie des Mitogen activated protein kinases (MAPK).....	20
C/ La voie Janus kinase (JAK)/signal transducer and activator of transcription (STAT).....	20
III/ Pathologies métaboliques liées au vieillissement.....	20
III-1/ Le syndrome métabolique.....	20
III-1.1/ La résistance à l'insuline.....	21
III-1.1/ Rôle du stress oxydant dans l'insulino-résistance.....	23
III-1.2/ L'intolérance au glucose du sujet âgé.....	25
III-2/ Rôle des « nouvelles adipokines » et leur implication dans l'insulinorésistance.....	25
1- L'adiponectine.....	25
2- La leptine.....	28
3- Facteur de Nécrose Tumorale alpha (TNF α).....	31
4- L'Interleukine 6 (IL-6).....	32
III-3/ Obésité liée au vieillissement.....	32
III-4/ Diabète du type II (DT2) et vieillissement.....	33
III-5/ Résistance à la leptine chez la personne âgée.....	34
III-6/ Obésité et résistance à la leptine liées au vieillissement.....	35

III-7/ Inflammation du tissu adipeux lié au vieillissement	36
III-8/ Résistance à la leptine et maladies neurodégénératives liées au vieillissement.....	39
III-9/ Résistance à l'insuline et maladies neurodégénératives liées au vieillissement.....	40
III-10/ Modification du métabolisme protéique au cours du vieillissement.....	40
III-10. A/ voie de transduction mTOR.....	42
III-11/ Vieillesse et variations de la synthèse protéique musculaire.....	43
III. A/ <i>Conséquences de modifications du métabolisme protéique et relation avec la fonction musculaire</i>	44
VI/ La dénutrition du sujet âgé.....	45
V/ Besoins nutritionnels de la personne âgée.....	46
V-1/ Besoins énergétiques.....	47
V-2/ Besoins en macronutriments.....	47
V-2. 1/ Les glucides.....	47
V-2. 2/ Les protéines.....	48
V-2-2. A/ Impact de l'âge sur la régulation du métabolisme protéique musculaire après le repas.....	49
V-2-2. B/ Sensibilité du muscle aux acides aminés au cours du vieillissement.....	50
V-2-2. C/ Impact des Protéines à digestion rapide et la Leucine sur le vieillissement....	51
V-2-2.D/ Impact des protéines laitières sur le stress oxydant et l'inflammation chez la personne âgée.....	53
V-2. 3/ Les lipides.....	53
V-2-3. 1/ Acides gras alimentaires.....	55
V-2-3. 2/ Synthèse des acides gras.....	57
V-A/ Synthèse des acides gras saturés.....	57
V-B/ Synthèse des acides gras monoinsaturés.....	58
V-C/ Synthèse des acides gras polyinsaturés.....	58
VI-C.1/ Les deux principales séries d'AGPI	58
V-3/ Données de consommation en acides gras polyinsaturés.....	62
V-4/ Apports nutritionnels conseillés pour les acides gras.....	63
V-5/ Rôle des AGPI dans le mécanisme d'action membranaire.....	64
V-5. 1/ <i>Mécanisme d'action des AGPI libres</i>	65
V-6/ Inflammation liée à la synthèse de médiateurs oxygénés par les AGPI.....	67
V-6. 1/ <i>DHA et libération de cytokine</i>	69
V-7/ Impact des acides gras oméga-3 sur le vieillissement.....	69
V-8/ <i>Cas particulier de l'impact des acides gras de la famille des oméga-3 sur les neuropathologies liées au vieillissement</i>	70
V-9/ Besoins en micronutriments.....	72

2/ OBJECTIF DU TRAVAIL	74
3/ PARTIE EXPERIMENTALE	75
3.1. <i>Présentation de la publication n°1</i>	75
<i>Résumé de l'étude 1</i>	76
3.2. <i>Présentation de la publication n°2</i>	106
<i>Résumé de l'étude 2</i>	107
4/ DISCUSSION GENERALE	134
1/ Impact de la dénutrition pendant 12 semaines.....	137
1- 1/ <i>Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire</i>	137
1-2/ <i>Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique</i>	138
2 / Impact de la réalimentation pendant 4 semaines.....	140
2 – 1 / Impact de la qualité des protéines de réalimentation.....	141
2 -1-1/ <i>Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire</i>	141
2-1-2/ <i>Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique</i>	141
2 – 2 / Impact de la qualité des lipides.....	142
2 -2- 1/ <i>Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire</i>	142
2-2-2/ <i>Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique</i>	144
5/ CONCLUSION ET PERSPECTIVES	147
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	151

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

AA: Acides Aminés.	LA: Acide linoléique.
AdipoR : Adiponectine récepteur.	LC: Longue Chaîne.
AET: Apport Energétique Total.	LPL: lipoprotéine lipase.
AG: Acides Gras.	MA: Maladie d'Alzheimer.
AGMI: Acides gras monoinsaturés.	MAPK: Mitogen Activated Protein Kinase.
AGP: Advanced glycation end products.	MGLA: Matière grasse laitière.
AGPI: Acides gras polyinsaturés.	NPY: Neuropeptide Y.
AGPI-LC: Acides gras polyinsaturés à longue chaîne.	Ob-R: obese receptor (récepteur de la leptine).
AgRP: Agouti Related Peptide.	PI3K: Phosphatidylinositol 3 Kinase.
ALA: Acide α -linoléique.	PKB: Protéine Kinase B.
ANC: Apports Nutritionnels Conseillés.	PKC: Protéine Kinase C.
ARA: Acide arachidonique.	POMC: Pro-opio-mélanocortine.
ARC: Noyau Arqué.	PTB: PhosphoTyrosine Binding domain.
BAT: Tissus Adipeux Brun.	PTP1B: Protein Tyrosine Phosphatase 1 B.
BHE: Barrière Hémato-Encéphalique.	SH2: Src Homology 2.
COX: Cyclooxygenase.	SOCS: Suppressor of Cytokine Signaling.
CRP: Protéine C-Réactive.	STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription.
DGLA: Acide dihomogammalinoléique.	TNFα: Facteur de Nécrose Tumorale alpha.
DHA: Acide docosahexaénoïque.	UCP: UnCoupling Protein.
DPA: Acide docosapentaénoïque.	VLDL: Very Low Density Lipoproteins.
DT2: Diabète de type 2.	WAT: Tissus Adipeux Blanc.
EPA: Acide eicosapentaénoïque.	
ERK: Extracellular Regulated Kinase.	
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.	
GLP-1: Glucagon-like Peptide-1.	
GR: Globules Rouges.	
HDL: High Density Lipoproteins.	
IL: Interleukine.	
IR: Insulin Receptor.	
IRS: Insulin Receptor Substrate.	
JAK: Janus Kinase.	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Nombre moyen de personnes âgées de respectivement 60, 75 et 85 ans ou plus.....	1
Figure 2: Evolution de la population française.....	2
Figure 3: modifications prévisionnelles de la pyramide des âges en France entre 2005 et 2030.....	3
Figure 4: Formation des produits terminaux de glycation.....	6
Figure5: Principales sources des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants.....	7
Figure 6: Production cellulaire des ERO et défense enzymatique antioxydant.....	8
Figure7: Impact des ERO sur le vieillissement.....	10
Figure 8: Représentation de la balance énergétique équilibrée par les apports et les dépenses en énergie.....	13
Figure 9 : Maturation de l'insuline.....	14
Figure 10: Principales voies de signalisation par l'insuline.....	18
Figure 11: Activation par l'insuline de l'entrée du glucose dans les cellules musculaires et les adipocytes.....	19
Figure 12: Les mécanismes d'inactivation de la signalisation de l'insuline.....	19
Figure 13: Obésité et développement de l'inflammation et de l'insulinorésistance dans le foie, le tissu adipeux et les muscles.....	22
Figure 14: Stress oxydant et insulinorésistance: les bases moléculaires impliquées.....	24
Figure 15: Principales voies de signalisation de l'adiponectine.....	27
Figure 16: Variations des concentrations d'adiponectine circulante dans différentes situations.....	28
Figure 17: Voie de signalisation de la leptine et insuline.....	30
Figure 18: Représentation des différentes modifications relatives à la redistribution de la graisse corporelle,.....	37
Figure 19: Représentation schématique du métabolisme protéique chez l'Homme adulte sain.....	41
Figure 20: La voie de transduction mTOR.....	42
Figure 21: Causes et conséquences de la sarcopénie.....	45
Figure 22: Structure du glucose, fructose.....	48
Figure 23: Structure de l'amylopectine, constituant de l'amidon.....	48

Figure 24: Modification de la balance azotée entre les phases post-absorptives et postprandiales.....	49
Figure 25: Structure et nomenclature des principales familles des acides gras.....	54
Figure 26 : Voies de bioconversion des AGPI de la série n-6 et n-3 chez l'homme.....	60
Figure 27: Voie de bioconversion des principales familles d'acides gras polyinsaturés.....	61
Figure 28: Schéma représentant la dynamique des membranes biologiques: le modèle de la mosaïque fluide.....	65
Figure 29 : Principaux modes d'action des AGPI dans la physiologie cellulaire.....	66
Figure 30: Dérivés pro-inflammatoire de l'AA et anti-inflammatoires du DHA et de l'EPA.....	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Impact du vieillissement sur l'organisme.....	12
Tableau 2: Déterminants de la prise alimentaire et de l'état nutritionnel des personnes âgées.....	46
Tableau 3: Composition en Acides Aminés (gr) pour 100gr de protéines soluble du lait (MSP) et la caséine.....	52
Tableau 4: Classification et nomenclature des acides gras les plus courants.....	55
Tableau 5: Composition en acides gras des lipides laitiers et des principales huiles végétales.....	57
Tableau 6: Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) en acides gras.....	64



Etude bibliographique

I/ Épidémiologie du vieillissement:

Les scénarios démographiques estiment que le nombre de personnes âgées de 60 ans et plus dans le monde, sera multiplié par trois d'ici à 2050. En Europe, La proportion des personnes âgées ne cesse d'augmenter au cours des dernières décennies et cela concerne particulièrement deux groupes : le premier groupe des personnes âgées ayant plus de 80 ans et le deuxième groupe concerne le «baby-boomers», âgés de 50 à 65 ans. Les catégories de l'âge de 50 ans à plus de 85 représentent plus de 20 millions de personnes, soit 35% de la population (source INSEE 2007). Selon l'Institut National des Statistiques et des Etudes Economiques (INSEE), en 2050, il y aura deux fois plus de personnes âgées de plus de 60 ans, trois fois plus de personnes âgées de plus 70 ans et quatre fois plus de personnes âgées de plus de 80ans (Brutel, 2002; INSEE, 2007).

Selon l'INSEE, en France, près d'un habitant sur trois aura plus de 60ans en 2050, contre un sur cinq en 2005. Ainsi, en 2050, la France métropolitaine compterait 22,3 millions de personnes âgées de 60 ans ou plus, soit près de deux fois plus qu'en 2005 (+80%). Selon la pyramide des âges (**figure 3**) la croissance de la population âgée est encore plus impressionnante; d'après les prévisions le nombre de personnes âgées de plus de 75 ans passerait de 4,9 à 10,9 millions entre 2005 et 2050 et celui des plus 85 ans passerait de 1,1 à 4,2 millions (**Figure 1**).

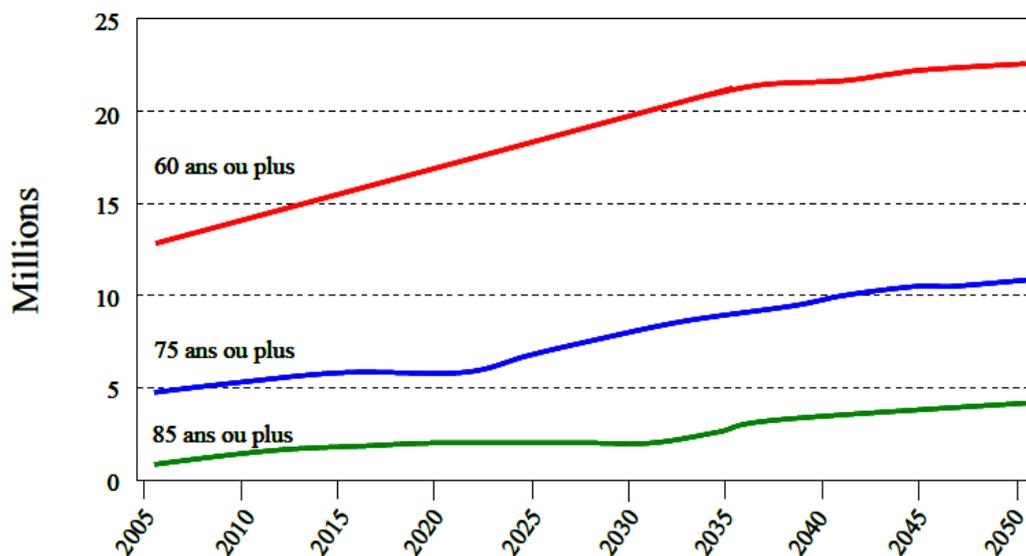


Figure 1 : Nombre moyen de personnes âgées de respectivement 60, 75 et 85 ans ou plus.
Champ: France métropolitaine. Source : *Projection de population 2005 – 2050, INSEE.*

Par ailleurs, l'espérance de vie à la naissance était de 77,5 ans pour les hommes et 84,3 ans pour les femmes (Pla, 2009). L'arrivée aux âges avancés de la génération du « baby-boom » associée à un allongement de l'espérance de vie à la naissance (trois mois de vie gagnée par an depuis 1950)

(Blanchet, 2007) est responsable d'une forte augmentation du nombre de personnes âgées, entraînant un vieillissement global de la population française. Quelles que soient les hypothèses formulées, la population de la France métropolitaine continuera à croître au moins jusqu'en 2025. Selon l'Insee, les projections font état d'estimations entre 58 et 70 millions d'habitants. Parmi cette population, on notera de plus en plus de personnes âgées (**Figure 2**), et ce d'autant plus qu'on se rapprochera du haut de la pyramide des âges (**Figure 3**). Ainsi, dans le scénario central des estimations, le nombre de personnes de plus de 75 ans passera de 4,2 millions (en 2000) à 11,6 millions (en 2050), soit une hausse de 176 %. Pour les personnes de plus de 85 ans cette hausse passe de 1,3 à 4,8 millions (+ 269 %). Quelle que soit la tranche d'âge, on notera une sur représentation des femmes chez les personnes âgées. En 2050, elles représenteront 59 % des plus de 75 ans et 64 % des plus de 85 ans (Brutel, 2002). L'espérance de vie en 2050 devrait être de 84 ans pour les hommes et de 89 ans pour les femmes (INSEE, 2005).

Au 1er janvier 2050, la France compterait alors sept habitants âgés de plus de 60 ans sur 10 habitants. Ce ratio aurait presque doublé en 45 ans.

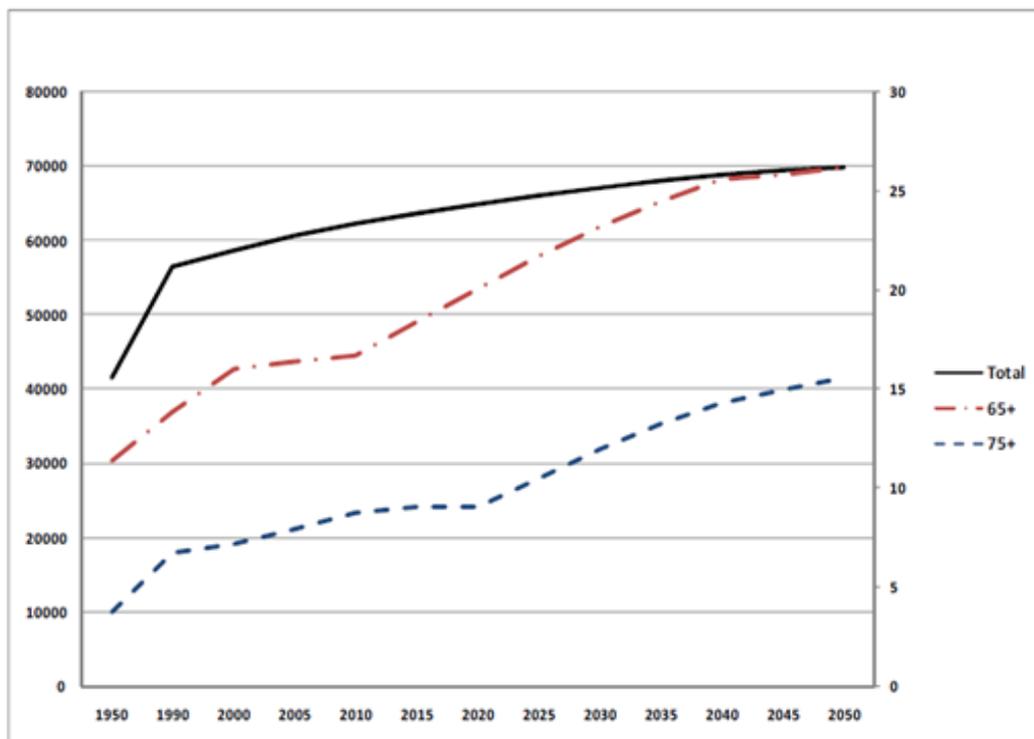


Figure 2: Evolution de la population française. (Proportions de personnes âgées entre 1950 et 2050).

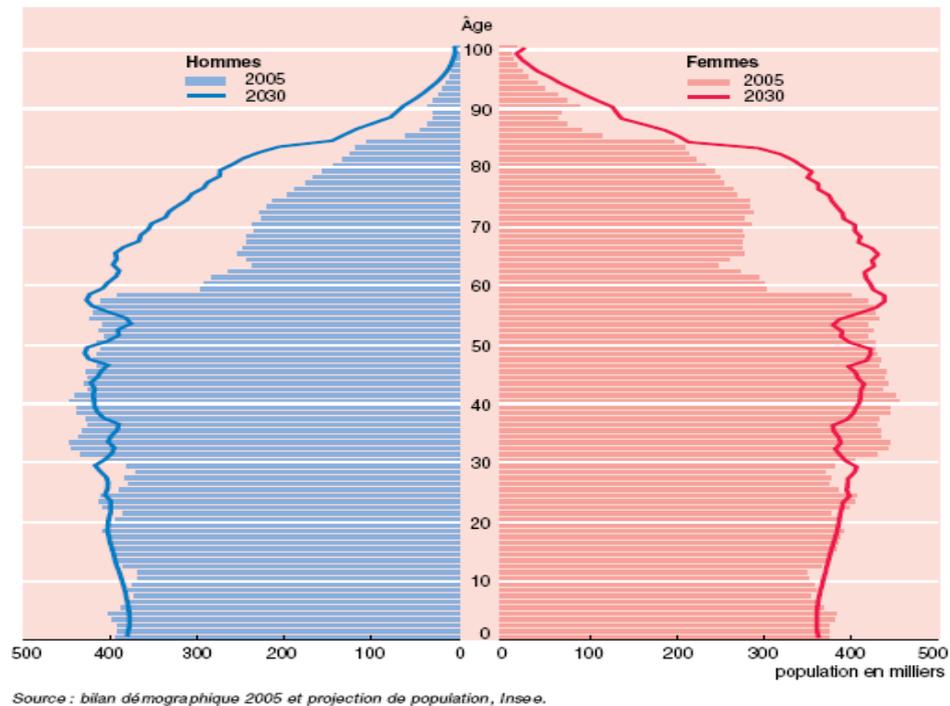


Figure 3 : modifications prévisionnelles de la pyramide des âges en France entre 2005 et 2030.

I- 1/ Définitions du vieillissement:

Le vieillissement, selon certains auteurs, est défini comme « l'action du temps sur les êtres vivants » (Jeandel, 2005). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une personne entre dans la vieillesse à partir de 65 ans. Sur le plan social, la vieillesse correspond souvent à l'âge de cessation d'activité professionnelle (entre 55 et 65 ans). Dans les services et institutions destinés aux personnes âgées, l'âge est en moyenne 85 ans (Lutzler, 2005). Sur un plan médical et biologique, le vieillissement est défini comme « l'ensemble des processus moléculaires, cellulaires, physiologiques et psychologiques qui accompagnent l'avancée en âge » résultant des interactions entre des facteurs génétiques et environnementaux (Jeandel, 2005). Aujourd'hui, le nombre de centenaires ne cesse d'accroître (Blanchet, 2007) et l'espérance de vie augmente continuellement ; on aurait gagné 30 ans au fil des 100 dernières années. Les avancées de la recherche nous assurent une vie plus longue, mais vieillir demeure toujours synonyme de fragilité physique, de pertes de mémoire, de troubles cognitifs et d'adaptation à des deuils de plus en plus fréquents. Les psychologues s'interrogent sur les meilleurs moyens à prendre pour que ces années gagnées en âge le soient aussi en qualité de vie (Dubé, 2004).

I- 2/ Modes de vieillissement:

La distinction des effets propres du vieillissement de ceux des maladies, dont les personnes âgées peuvent être victimes, est tributaire d'une bonne connaissance des modes de vieillissement. Attribuer à tort certains symptômes aux effets du vieillissement, conduit à sous-estimer des problèmes de santé et à négliger leurs prises en charge et leurs traitements. C'est aussi émettre l'hypothèse que le vieillissement est un processus uniforme et figé dans le temps. Or, il s'agit d'un phénomène multidimensionnel (démographique, médical, sociologique, psychologique et économique) qu'il convient de bien comprendre pour une éventuelle mise en place de stratégies efficaces susceptibles de prévenir certains de ses effets. De plus, la population vieillissante est hétérogène, dont trois modes de vieillissement sont décrits: le vieillissement «réussi», le vieillissement «usuel» et le vieillissement «pathologique» :

- Vieillessement «réussi» : les personnes sont en bonne santé, autonomes, sans troubles cognitifs, et dont l'état nutritionnel est bon ou présentent une seule pathologie chronique, bien contrôlée. Ils représentent 45 à 50% des personnes de plus de 75 ans.

- Vieillessement «usuel» : les personnes âgées sont vulnérables aux épisodes de stress (pathologique ou psycho-environnemental), souvent poly-pathologiques (avec plusieurs traitements) et dont l'état nutritionnel est précaire. Ils représentent 25 à 35% des sujets âgés.

- Vieillessement «pathologique» : c'est un vieillissement qui s'accompagne de nombreuses maladies (maladies mentales, maladies neurodégénératives...) où l'âge avancé est un facteur de risque. Ces maladies, plus souvent chroniques, concernent particulièrement la sphère psychoaffective (dépression), le statut cognitif (démence), les capacités locomotrices, la sphère sensorielle et l'état cardiovasculaire (Jeandel, 2005). Ces maladies sont fréquemment associées à des troubles nutritionnels et peuvent exposer à un risque majoré de maladies aiguës, en particulier infectieuses ou traumatiques. Elles doivent, de ce fait, être considérées comme des déficiences, à l'origine d'incapacités fonctionnelles parfois majeures et de handicaps authentiques (Jeandel, 2005). Leur état nutritionnel est altéré de façon quasi-constante, et aggravé par la succession d'évènements infectieux, l'immobilisation, la présence d'escarres. Ils sont 10 à 15% des sujets âgés, le plus souvent en institution ou nécessitant des aides à domicile.

I-3/ Mécanismes à l'origine du vieillissement:

Le vieillissement est un processus complexe et implique de nombreux mécanismes cellulaires et moléculaires dont la plupart ne sont pas bien élucidés. Aujourd'hui, les progrès de la recherche permettent de mieux appréhender certains facteurs intervenant dans ce processus. En effet, le vieillissement est un phénomène complexe et multifactoriel, il est défini par l'ensemble des processus physiologiques qui modifient la structure et les fonctions de l'organisme. Il résulte des effets conjoints de facteurs génétiques et environnementaux auxquels est soumis l'organisme tout au long de sa vie. Trois facteurs participent au processus de vieillissement: les prédispositions génétiques (Fülöp, 2007) le stress oxydatif (Rattan, 2006) et la glycation non enzymatique des protéines (Sanders, 2012). Les aspects génétiques du vieillissement ne seront pas développés dans ce chapitre. Toutefois, il est important de savoir que la génétique tient une place importante dans le vieillissement et la longévité de chaque individu. En effet, la longévité de chaque espèce est conditionnée et déterminée par son patrimoine génétique. Certains polymorphismes ou l'apparition de mutations sporadiques peuvent induire une accélération du vieillissement ou augmenter le risque d'apparition de pathologies (Westendorp, 2006; Martin, 2007).

I- 3. 1/ La glycation non enzymatique des protéines:

Le terme de glycation non enzymatique désigne les modifications post-traductionnelles tardives, provoquées par la fixation spontanée d'oses simples réducteurs ou de leurs dérivés sur les groupements amines des protéines. Cette réaction spontanée et irréversible est différente de la glycosylation, réaction enzymatique post-traductionnelle précoce qui participe à la régulation du métabolisme cellulaire. La glycation des protéines aboutit, d'abord, à la formation d'une base de Schiff (encore réversible) puis à un produit d'Amadori qui conduit irréversiblement à des gros polymères, appelés produits terminaux de glycation (Advanced glycation end products (AGP)) (Heidland, 2001) tels que, la carboxyméthyllysine (CML), la carboxyéthyllysine (CEL) et la pentosidine. Ces composés peuvent aboutir à la formation de structures polycycliques reliant plusieurs chaînes peptidiques entre elles (**Figure 4**).

La glycation modifie les propriétés physico-chimiques des protéines et les rend plus résistantes à la protéolyse et empêche leur renouvellement. Elles ont donc tendance à s'accumuler dans les cellules et la matrice extracellulaire. Ces modifications peuvent conduire à l'altération des fonctions physiologiques voire à la mort cellulaire.

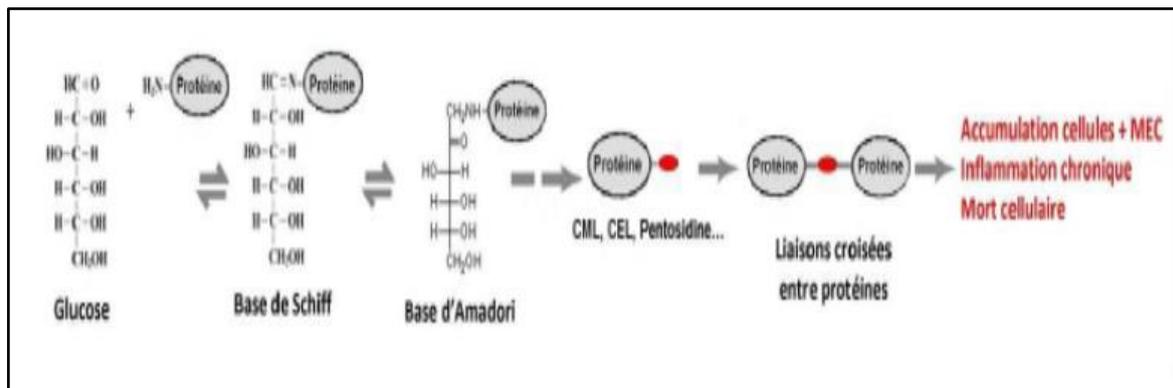


Figure 4: Formation des produits terminaux de glycation.
CML = CarboxyMéthylLysine, CEL = CarboxyEthylLysine.

De plus, les AGP induisent la formation de pontages moléculaire qui rend les fibres de collagène plus rigides et moins solubles ((Heidland, 2001; Sanders, 2012). Par ailleurs, les AGP pourraient avoir d'autres actions par leur liaison à des récepteurs spécifiques, présents sur les macrophages, les cellules endothéliales et mésangiales, en induisant la sécrétion de cytokines proinflammatoires ou de facteurs de croissance. La glycation des protéines peut également se produire à partir du pentose, conduisant à la formation de pentosidine. L'importance de la glycation des protéines a été soulignée par l'effet de médicaments qui inhibent la glycation, se traduisant par un ralentissement du vieillissement de certaines fonctions chez des modèles animaux. Ainsi, au cours du diabète de type 2, il y a une augmentation de la glycation des protéines associée à l'hyperglycémie (l'hémoglobine glyquée est un marqueur bien connu de l'équilibre glycémique). En outre, certains aspects du diabète sont considérés comme un modèle de vieillissement accéléré et il existe de nombreuses analogies entre les effets du diabète et ceux du vieillissement (Girard, 2012; Lavoie, 2010).

I-3. 2/ Le stress oxydatif

En 1956, Harman propose la théorie radicalaire du vieillissement selon laquelle les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites par les organismes aérobies induiraient des dommages oxydatifs sur les biomolécules qui, en s'accumulant, seraient responsables du vieillissement (Harman, 1956). En effet, ces ERO possèdent un ou plusieurs électrons non appariés ce qui les rend très réactifs provoquant ainsi l'oxydation de certains constituants cellulaires. Le stress oxydant apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur de l'état pro-oxydant (Sies, 1991; Karihtala, 2007). Dans les systèmes vivants, une production physiologique de ces ERO se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces espèces réactives est possible.

Les antioxydants, dont une grande partie est peut être apportée par l'alimentation, ne seraient pas suffisants à eux seuls pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres oxygénés (Beaudeau, 2005) (**Figure 5**).

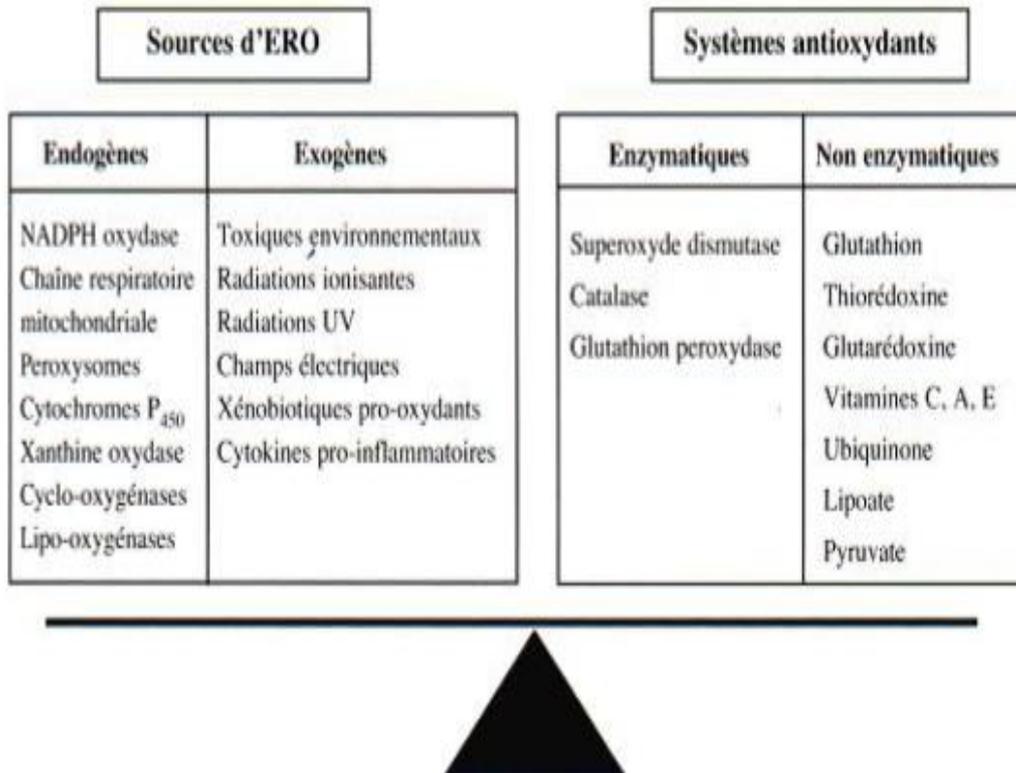


Figure 5 : Principales sources des Espèces Réactives de l'Oxygène (endogènes et exogènes) et des systèmes antioxydants (Beaudeau, 2005)

I-3. 3/ Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO):

Les mitochondries sont les principaux lieux de production physiologique d'ERO. En effet, au cours de la respiration mitochondriale, un ensemble de complexes protéiques membranaires et de transporteurs d'électrons, tels que l'ubiquinone et le cytochrome C (Koua, 2009), catalysent le transfert d'électrons vers l'oxygène. Cependant, Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche périphérique. Le champ magnétique, crée par la rotation de cet électron, ou spin, n'est pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, dont les composés cellulaires: lipides, protéines et acides nucléiques, notamment lors de réaction en chaînes dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides. Les radicaux libres issus de la réduction monovalente de l'oxygène constituent les espèces réactives de

l'oxygène. Les Espèces Réactives Oxygénées (ERO) sont des molécules contenant de l'oxygène, dont la réactivité est bien supérieure à celle de la molécule de dioxygène O_2 . Les ERO comprennent des radicaux tels que le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), l'hydroxyle (OH^{\cdot}), l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}), et des espèces non radicalaires telles le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet (1O_2) et le peroxyde nitrite ($ONOO^{\cdot}$) (Figure 6). Le superoxyde et l'hydroxyle sont très instables, au contraire d' H_2O_2 qui diffuse librement et a une durée de vie plus longue (Rahman, 2006).

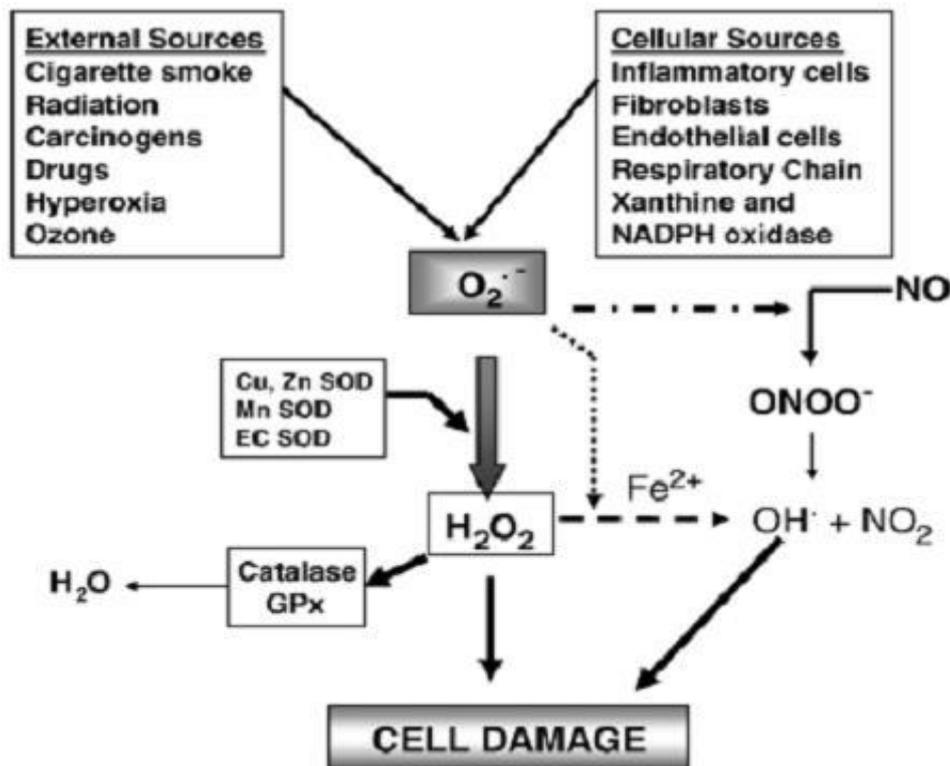


Figure 6: Production cellulaire des espèces réactives d'oxygénées (ERO) et défense enzymatique antioxydante (Rahman, 2006)

De nombreux facteurs, tels que des perturbations métaboliques, dont l'insulinorésistance et l'hyperglycémie, l'inflammation, peuvent conduire à la formation accrue des radicaux libres (Morel, 1999)

1-4/ Les antioxydants

Un état d'équilibre existe entre la production d'ERO et l'action d'enzymes ou de molécules antioxydantes, en l'occurrence, les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes et principaux piègeurs des radicaux superoxydes $O_2^{\cdot-}$ dans le vaisseau sanguin. Ces enzymes catalysent

la conversion de l' $O_2^{\cdot-}$ en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Buettner, 2011) tandis que les peroxydases transforment H_2O_2 en H_2O . Les peroxydases utilisent des peroxydes (composés contenant le groupement fonctionnel ROOR') comme accepteurs d'électrons pour catalyser une réaction d'oxydation. Elles sont extrêmement répandues et présentes dans la plupart des organismes vivants. En effet, une multitude de familles de peroxydases existe parmi lesquelles on distingue la super-famille des cyclooxygénases, les catalases, les glutathione peroxydases ou encore les cytochromes C peroxydases (Koua, 2009). Par ailleurs, on trouve aussi des molécules antioxydantes à l'instar des vitamines C, E et les caroténoïdes. Le caractère hydrophobe de ces molécules leur permet de s'insérer au sein de la membrane plasmique, dans laquelle elles jouent un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les ERO.

Au cours du vieillissement, cet équilibre est altéré avec une augmentation de la production de radicaux libres par les mitochondries et une diminution des capacités des systèmes antioxydants. De plus, certains facteurs environnementaux (exposition aux UV, tabac, alcool) peuvent augmenter davantage ce déséquilibre. En effet, lorsque la cellule ne peut plus faire face à l'accumulation de ces ERO, ces derniers oxydent des constituants cellulaires (protéines, lipides, glucides et ADN) conduisant à des dommages irréversibles. Ce phénomène est appelé stress oxydatif.

I-5/ Déséquilibre de la balance redox liée au vieillissement :

Les ERO augmentent avec l'âge, ainsi que les dommages qu'ils induisent, que ce soit par augmentation de production ou par des défauts de dégradation des ERO (Bokov, 2004). Ainsi, comme résumé dans la figure 7, le stress oxydant est responsable de dommages au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides, conduisant à l'altération des mécanismes de défense de l'organisme et des structures cellulaires (Blumberg, 2000) . L'ensemble de ces phénomènes aboutit à la perte des fonctions normales et au vieillissement puis à la pathologie (**figure 7**).

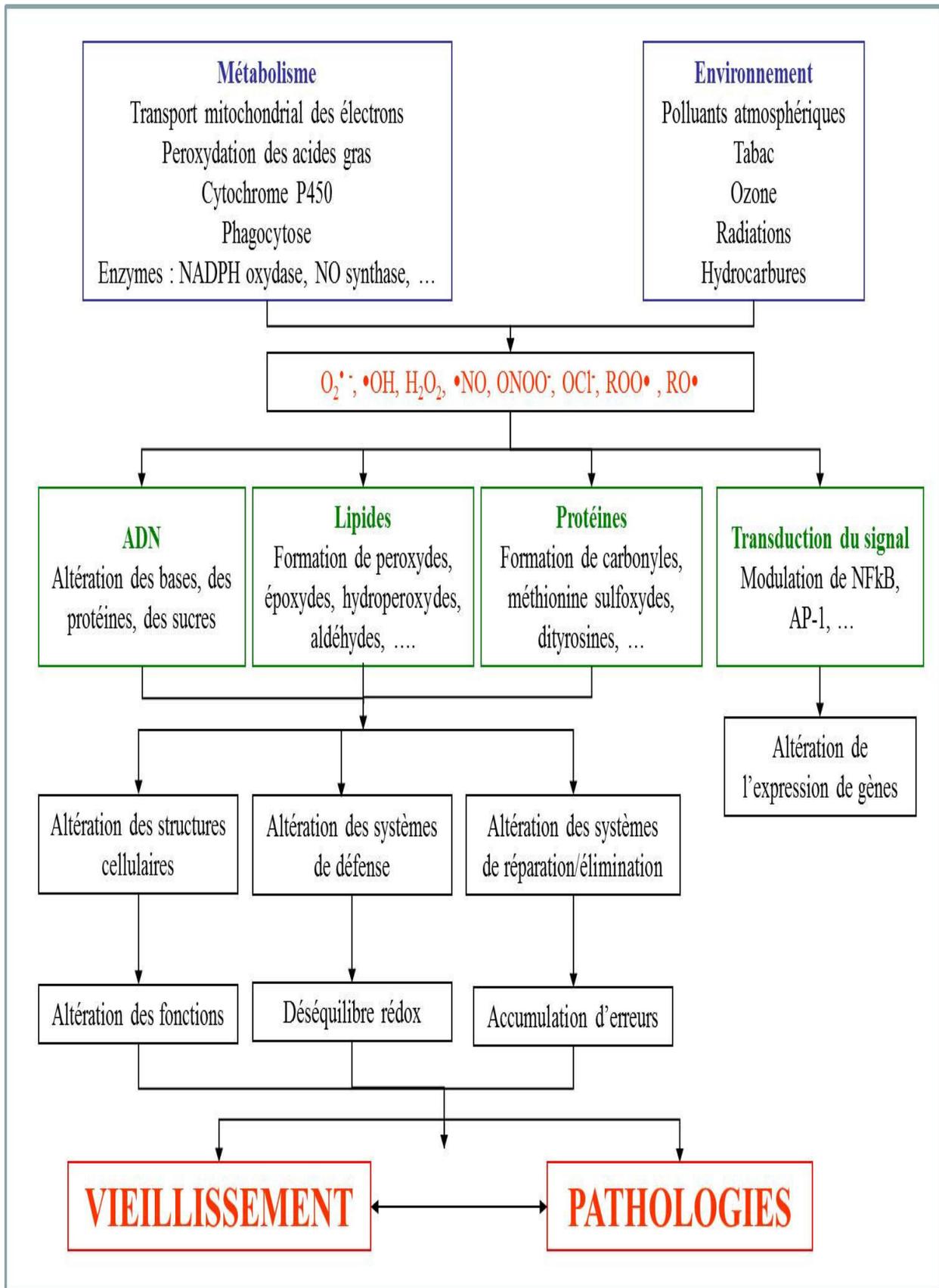


Figure7: Impact des Espèces Réactives Oxygénées (ERO) sur le vieillissement (Blumberg JB, 2000)

I-6/ Effets du vieillissement sur l'organisme:

Le vieillissement s'accompagne d'une diminution des capacités fonctionnelles de l'organisme. D'une façon générale, cette altération est la plus manifeste dans les situations qui mettent en jeu les réserves fonctionnelles (effort, stress, maladies aiguës). Cette diminution des réserves fonctionnelles induit une réduction de la capacité de l'organisme à s'adapter aux situations d'agression. De même, plusieurs systèmes de régulation de paramètres physiologiques s'avèrent moins efficaces chez le sujet âgé. Il faut souligner que cette réduction fonctionnelle liée au vieillissement est très variable d'un organe à l'autre (vieillesse différentiel inter-organe) (**Tableau 1**). De plus, à âge égal, l'altération d'une fonction donnée varie fortement d'un individu âgé à l'autre (variabilité du vieillissement interindividuel) (Risher, 2010).

	<i>Effets du vieillissement sur l'organisme</i>
<i>Le système nerveux</i>	Appauvrissement de la substance blanche. Diminution de certains neurotransmetteurs (acétylcholine) et de neurones corticaux (Michael, 2000) Allongement des temps de réaction Réduction des capacités mnésiques d'acquisition d'informations nouvelles (Cuny, 1995). Désorganisation du rythme circadien (Caillet, 2006) (baisse de la sécrétion de mélatonine). Diminution des fibres nerveuses fonctionnelles (augmentation des temps de conduction des nerfs périphériques).
<i>Le métabolisme</i>	Perturbation des fonctions biologiques Augmentation de la masse grasse et réduction de la masse maigre (effet de sédentarité) (Cuny, 1995). Perturbation du métabolisme glucidique (diminution de la tolérance au glucose qui se traduit par la résistance à l'insuline).
<i>Le système cardiovasculaire</i>	Modifications de la structure de l'élastine, rigidification du collagène et altération de la vasomotricité artérielle (augmentation de la pression artérielle) (Robert, 1989). Modifications anatomiques (augmentation de la masse cardiaque et de l'épaisseur pariétale du ventricule gauche) (Bounhoure, 1999).
<i>L'appareil respiratoire</i>	Diminution des compliances pulmonaire et thoracique et réduction du volume des muscles respiratoires (Caillet, 2006) Réduction des calibres des bronches distales (baisse des débits expirés). Réduction des capacités de diffusion de l'oxygène et de la pression partielle en oxygène du sang artériel (Robert, 1989).
<i>L'appareil digestif</i>	Diminution du flux salivaire sur le plan buccodentaire Réduction de la sécrétion d'acide au niveau gastrique (hypochloridie). Diminution du péristaltisme (temps de transit intestinal ralenti) (Cuny, 1995). Diminution de la masse du foie ainsi que son débit sanguin (au niveau hépatique).
<i>Les organes sensoriels</i>	Diminution de la capacité d'accommodation (presbytie) et d'une opacification du cristallin (cataracte) (Cuny, 1995). Une presbyacousie progressive (sons aigus) sur le plan auditif. Les perturbations du goût et de l'olfaction restent controversées (Cuny, 1995).
<i>L'appareil locomoteur</i>	Diminution de la masse musculaire (sarcopénie) et de la force musculaire (dynapénie). Diminution de la densité minérale osseuse (ostéopénie) Amincissement du cartilage et altération de ses fonctions mécaniques
<i>L'appareil urinaire</i>	Diminution du nombre de néphrons fonctionnels (diminution de la filtration glomérulaire et de la clairance rénale).
<i>Les organes sexuels</i>	Chez la femme, arrêt de la sécrétion ovarienne d'oestrogène (la survenue de la ménopause). Chez l'homme, réduction progressive de la sécrétion de testostérone, diminution de la spermatogenèse et augmentation du volume prostatique.
<i>La peau et les phanères</i>	Altération du tissu élastique, épaissement fibreux du derme, aplanissement de la jonction dermo-épidermique et diminution du nombre de mélanocytes (Robert, 1989). Apparition des rides, diminution de la vitesse de croissance des phanères et sécheresse de la peau (Anne Marie, 2002).
<i>Le système immunitaire</i>	Diminution de l'immunité à médiation cellulaire (lymphocyte T) Perturbation de la coopération cellulaire immunitaire (diminution des interleukines 2 et 4 et augmentation des interleukines IL6 et TNF α).

Tableau 1: Impact du vieillissement sur l'organisme.

II/ Le vieillissement et métabolisme:

Les pathologies liées au métabolisme du glucose augmentent avec l'âge. Dans le monde, le diabète de type 2 touche 310 millions d'individus. Dans la survenue de ces atteintes, de nombreux éléments sont mis en jeu. En particulier, l'insuline tient un rôle central dans le maintien de l'homéostasie glucidique ; la diminution de sa sécrétion aussi bien que la diminution de ses actions interviennent de manière prépondérante dans la physiopathologie des altérations de l'homéostasie glucidique.

II-1/ Homéostasie glucidique :

L'homéostasie glucidique correspond à l'ensemble des mécanismes physiologiques, cellulaires et moléculaires qui ajustent étroitement la glycémie entre 0,8 et 1,2 g/L (Burcelin, 2007 ; Migrenne, 2006). L'organisme doit alors gérer en permanence les variations de la concentration du glucose sanguin dues aux apports alimentaires, la production endogène (principalement hépatique) et l'utilisation du glucose par les tissus et organes. Cet équilibre est dynamique afin de permettre une régulation précise de l'homéostasie glucidique faisant intervenir des facteurs hormonaux, nerveux et métaboliques (**Figure 8**).

En période post absorptive et au cours du jeûne, le foie produit du glucose soit par glycogénolyse (jeûne court) ou par néoglucogénèse (jeûne prolongé). D'autres organes peuvent aussi produire du glucose par néoglucogénèse mais avec une moindre importance que le foie tels que le rein et l'intestin. Cette production assure principalement l'apport glucidique aux tissus et organes qui utilisent presque exclusivement que le glucose comme source énergétique tels que le cerveau et les globules rouges. L'homéostasie glucidique peut être affectée par l'altération de la signalisation de l'insuline et de la leptine. En effet ces deux hormones jouent un rôle majeur dans le contrôle de l'homéostasie énergétique au niveau central (Paz-Filho, 2008; Cardoso, 2009).

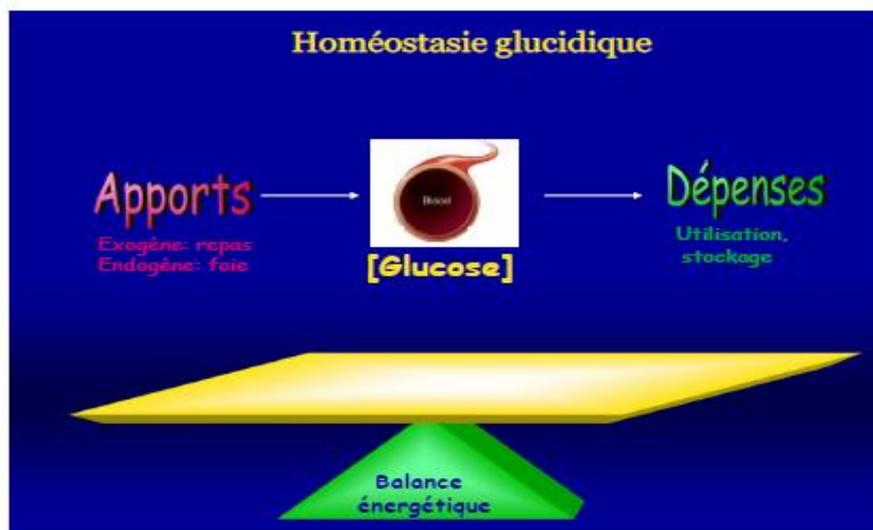


Figure 8: Représentation de la balance énergétique équilibrée par les apports et les dépenses en énergie, qui régule l'homéostasie glucidique.

II-2/ Signalisation de l'insuline:

L'insuline est une hormone peptidique de 6 kDa constituée d'une chaîne A de 21 acides aminés et d'une chaîne B de 30 acides aminés, reliées entre elles par deux ponts disulfures (**Figure 9**). Chez l'homme, le gène codant pour l'insuline est localisé sur le chromosome 11 (localisation 11p15.5) et contient deux introns. L'insuline est synthétisée et sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Elle est produite après la maturation de la pré-proinsuline en proinsuline suite à des modifications post-traductionnelles (**Figure 9**). Sa sécrétion se fait principalement en réponse à une augmentation de la glycémie, elle réduit la néoglucogenèse hépatique et augmente la captation du glucose dans le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie (Taniguchi, 2006 ; White, 2003). L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante connue chez l'homme qui favorise l'anabolisme d'une manière générale (stockage des lipides et des glucides, et favorise la synthèse protéique) (Kahn, 1994). Elle favorise aussi la croissance et la différenciation cellulaire (Dorrello, 2006; Gonzalez, 2005; Rosen, 2000; Saltiel, 2001).

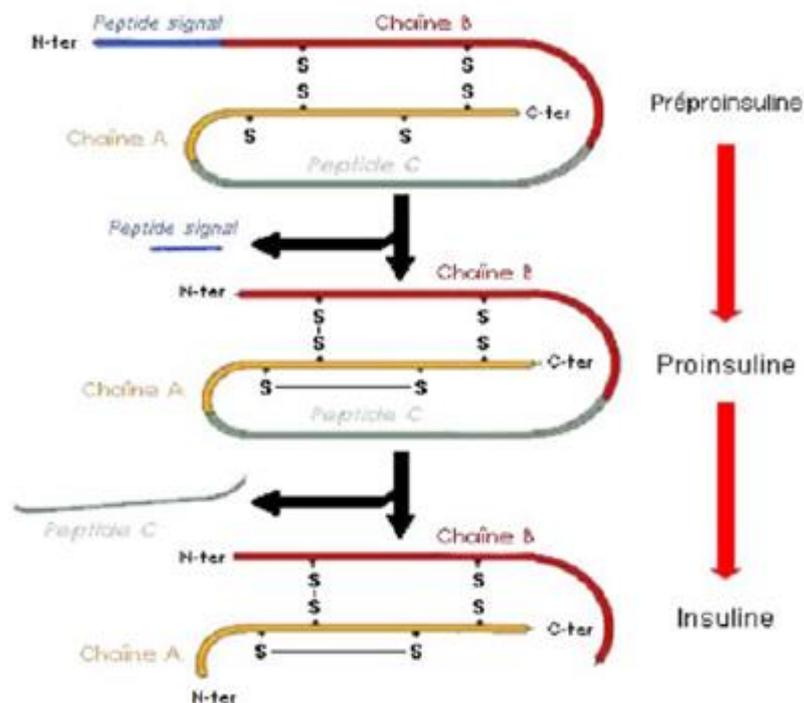


Figure 9 : Maturation de l'insuline. La préproinsuline comporte un peptide signal qui sera clivé pour donner la proinsuline. Ce précurseur se verra ensuite éliminer le peptide C présent au centre de sa séquence. Cela donnera alors l'insuline mature, composée de 2 chaînes α et β reliées entre elles par des ponts disulfures.

L'action de l'insuline passe par son interaction avec son récepteur membranaire IR (insulin receptor). Le récepteur de l'insuline a une expression presque ubiquitaire avec une forte expression dans les tissus dits « insulino-dépendants » tels que : le foie, le muscle et le tissu adipeux.

Le récepteur de l'insuline est une glycoprotéine tétramérique, formée de deux sous-unités α extracellulaires et de deux sous-unités β transmembranaires contenant un domaine tyrosine kinase dans leur partie C-terminale. Les différentes sous-unités sont reliées entre elles par des ponts disulfures. Le récepteur de l'insuline fait partie de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase. La liaison à l'insuline est assurée par les sous-unités α , qui contiennent des sites de liaison de haute et de basse affinité pour l'insuline. Les modèles actuels proposent la liaison d'une molécule d'insuline pour chacun des récepteurs (De Meyts, 2002). Outre le domaine tyrosine kinase, la partie intracellulaire de la sous-unité β contient des résidus tyrosine. Ces résidus sont essentiels pour la transduction du signal du récepteur.

La liaison de l'insuline à son récepteur modifie la conformation des sous unité α ce qui à son tour modifie la région transmembranaire des sous unités β conduisant la trans-phosphorylation de celles-ci sur des résidus tyrosines (autophosphorylation) (Hubbard, 1997). Le récepteur ainsi phosphorylé activera la phosphorylation de substrats intracellulaires sur tyrosine. La famille des IRS (Insulin Receptor Substrate, IRS1-4) constitue les substrats majeurs d'IR notamment IRS-1 et IRS-2 (White, 2002) (**Figure 10**). En effet, les IRS ont une structure primaire commune, présentant dans leur partie N-terminale, un domaine PH (*pleckstrin homology domain*) et un domaine PTB (*phosphotyrosine binding domain*) qui sont responsables de l'interaction de la protéine avec le résidu phosphotyrosine présent dans la partie juxtamembranaire du récepteur (Feener, 1993). La partie C-terminale des IRS contient plusieurs résidus tyrosine localisées dans des motifs spécifiques, qui sont phosphorylés par le récepteur, et servent de site d'encrage pour les effecteurs de la signalisation tel que la PI3-kinase, le complexe Grb2/Sos et la phosphatase SHP2 (White, 2002).

Le récepteur de l'insuline phosphoryle aussi d'autres substrats, notamment la Shc (Src homology 2/ α collagen-related) exprimée sous trois isoformes, Shc p46, p52 et p66, issues de l'épissage alternatif d'un même transcrit (Migliaccio, 1997; Dupont, 1998). L'invalidation du gène Shc induit une létalité embryonnaire liée à des problèmes de développement du système cardiovasculaire, démontrant que la protéine Shc est une cible majeure des récepteurs des facteurs de croissance (Lai, 2000). La phosphorylation de Shc par le récepteur de l'insuline permet le recrutement de l'adaptateur Grb2 et l'activation de la voie des MAP kinases, conduisant ainsi aux effets mitogéniques de l'insuline (Virkamaki, 1999).

II-3/ Signalisation du récepteur de l'insuline:

La transmission du signal insulinique dans la cellule met en jeu des modules protéiques de reconnaissance présents sur les protéines substrats et capables de les positionner à proximité du récepteur activé. Au moins 9 substrats intracellulaires communs aux récepteurs de l'insuline et de l'IGF1 ont été identifiés (Capeau, 2005).

La stimulation du récepteur de l'insuline est à l'origine de l'activation de deux grandes voies de signalisation: la voie de la PI-3 kinase (effets principalement métaboliques) et la voie des MAP kinases (effets majoritairement géniques) (**figure 10**).

II-3-1/ Les voies de signalisation induites par l'insuline.

A/ La voie IRS/PI3K/Akt.

A-1/Les insulin receptor substrates (IRS):

Les protéines IRS se placent au niveau cytosolique de la membrane plasmatique. Elles positionnent ainsi leur domaine PTB, adjacent au domaine PH et se fixent au récepteur de l'insuline (RI) sur la tyrosine 960 phosphorylée par l'intermédiaire de leur domaine PTB (Wolf, 1995; Yenush, 1996; Craparo, 1995). IRS2 va en outre interagir avec le domaine tyrosine-kinase du RI. La partie C-terminale des protéines IRS se trouve à proximité du domaine tyrosine kinase du récepteur, qui phosphoryle des résidus tyrosine spécifiques sur les IRS. Les protéines IRS, ainsi phosphorylées, sont à leur tour reconnues par les domaines SH2 (src homology 2) de protéines relais. Les principales sont la sous-unité régulatrice de la phosphatidyl-inositol 3 (PI3) kinase (p85) (Sesti, 2001), les protéines adaptatrices Grb2 (Growth factor receptor-bound protein 2) et Crk II, la tyrosine-kinase Fyn, et la phosphotyrosine phosphatase SHP2 (SH2 domain protéin tyrosine phosphatase-2) (**Figures 10, 17**).

A-2/ La phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K):

La PI3 kinase catalyse la phosphorylation de phospho-inositides membranaires, induisant une augmentation rapide de phosphatidyl inositol 3, 4, 5-triphosphate (PI(3', 4, 5)P3) (Kapeller, 1994). Ces molécules activent ensuite d'autres protéines effectrices telles que la phosphoinositide-dependant protein kinase-1 (PDK-1), Akt/PKB ou les protéines kinases C (PKC) atypiques (Toker, 2000; Vanhaesebroeck, 2000; Chan, 1999; Franke, 1997; Klippel, 1997). Les produits de phosphorylation peuvent aussi jouer un rôle important dans la régulation négative de l'activité de la PI3K (Rameh, 1995).

A-3/ Akt ou protéine kinase B (PKB):

A l'état basal, Akt est inactif et localisé dans le cytosol. En réponse à l'insuline, la PI3K est activée et induit la production de PI (3', 4) P2 et de PI (3', 4, 5) P3, qui sont reconnus par le domaine PH de Akt. Cette interaction entre le domaine PH et les lipides membranaires permet la translocation et le changement conformationnel d'Akt démasquant ainsi le site thréonine 308, contenue dans la boucle d'activation du domaine kinase, est ainsi phosphorylée par PDK-1 (Vanhaesebroeck, 2000), et la sérine 473 par PDK-2 (Vanhaesebroeck, 2000). Akt phosphoryle à son tour ses substrats, aussi bien cytosoliques (la glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) enzyme impliquée dans la régulation de la synthèse du glycogène (Cross, 1995)) que nucléaires (la protéine Forkhead box 1 (Foxo 1) (Rena, 1999)). L'activation des différentes voies de signalisation liées au récepteur de l'insuline conduit à de nombreux effets physiologiques. Ainsi Akt est impliqué dans la prolifération et la différenciation cellulaire, la synthèse protéique et l'inhibition de l'apoptose en phosphorylant et inhibant le facteur pro-apoptotique Bad (Le Roith, 2001; White, 2002). De plus elle est impliqué dans le transport du glucose et la translocation du glucose transporter 4 (GLUT4) à la membrane (Cong, 1997; Kohn, 1996; Wang, 1999).

La voie de signalisation IR/PI3-kinase joue un rôle majeur dans le contrôle de l'homéostasie glucidique en favorisant le transport du glucose dans les tissus insulino-dépendants tels que le tissu adipeux et le muscle. L'insuline induit la translocation, d'un compartiment intracellulaire vers la membrane plasmique, de vésicules contenant les transporteurs du glucose GLUT-4 (Huang C, 2005) présentes dans les cellules musculaires et les adipocytes (Saltiel, 2001; Bryant, 2002). La capacité plus ou moins grande de l'insuline à permettre l'utilisation du glucose par les tissus périphériques définit le degré de sensibilité à l'insuline d'un sujet. Chez les humains obèses et/ou diabétiques, cette action de l'insuline est sévèrement réduite par un défaut au niveau du transport du glucose (DeFronzo, 1988; Shepherd, 1999).

Deux voies de signalisation semblent importantes pour la translocation de GLUT4, dépendante ou non de l'activation de la PI-3 kinase (Saltiel, 2002) (**Figure 11**). La voie dépendante de la PI3 kinase, passe par l'activation de la protéine kinase Akt et de protéines kinase (PK) C atypiques, les PKC ξ/λ (Saltiel, 2002). Il a été montré qu'après stimulation par l'insuline des adipocytes de rat, la protéine Akt2 activée est retrouvée associée aux vésicules contenant le GLUT-4. Il a été également décrit qu'il y avait un défaut d'activité des PKC atypiques dans le muscle squelettique de sujet diabétique de type 2 (Cho, 2001).

Cependant, plusieurs mécanismes permettent une désactivation de la voie de signalisation de l'insuline. La voie principale est la phosphorylation des résidus sérine-thréonine de son récepteur IR qui jouerait un rôle antagoniste à la phosphorylation sur les tyrosines (Le Roith, 2001). Ces

phosphorylations seraient réalisées par des kinases telles que la PKC, IKK β , MAP kinase et JNK (Lee YH, 2003). Les signaux capables d'induire le découplage du récepteur de l'insuline sont nombreux. Parmi eux, on note les acides gras libres associés au diacylglycérol et l'acylCoA, le glucose, l'hyperinsulinisme ainsi que des cytokines inflammatoires, en particulier, le TNF α et l'IL1 β (Rui, 2001). La déphosphorylation du récepteur et des protéines IRS intervient également dans ce processus, elle est réalisée par des tyrosines phosphatases comme les phosphatases PTP1B cytosoliques et les Leukocytes common Antigen-Related molcul membranaires (Kido, 2001).

Un autre mécanisme intervient dans le rétrocontrôle négatif de l'insuline, impliquant les protéines suppressor of cytokine signalling (SOCS) (Emanuelli, 2000; Krebs, 2003; Shi, 2004; Lebrun, 2008). Dans la lignée adipocytaire 3T3-L1 et dans les cellules COS-7 transfectées, l'insuline a la capacité d'induire l'expression de SOCS-3 via STAT-5b. SOCS-3 interagit avec la phosphotyrosine 960 d'IR et empêche ainsi le recrutement de STAT-5b au niveau du récepteur (Emanuelli, 2000). SOCS-1 et SOCS-3 sont recrutées au niveau du récepteur de l'insuline et bloquent par encombrement stérique l'interaction entre IR et ses substrats. SOCS1 et 3 peuvent aussi provoquer l'ubiquitination des IRS, les dirigeant ainsi vers la voie de dégradation du protéasome (Rui, 2002; Ueki, 2004) et ont aussi la capacité d'inhiber l'activité kinase de IR (Ueki, 2004).

D'autres mécanismes moins décrits tels que la déphosphorylation des phosphoinositides ou la réversion du signal de la PI3K, seraient également impliqués dans le contrôle négatif de la signalisation de l'insuline. Ces mécanismes sont résumés dans la **figure 12** (Kido, 2001).

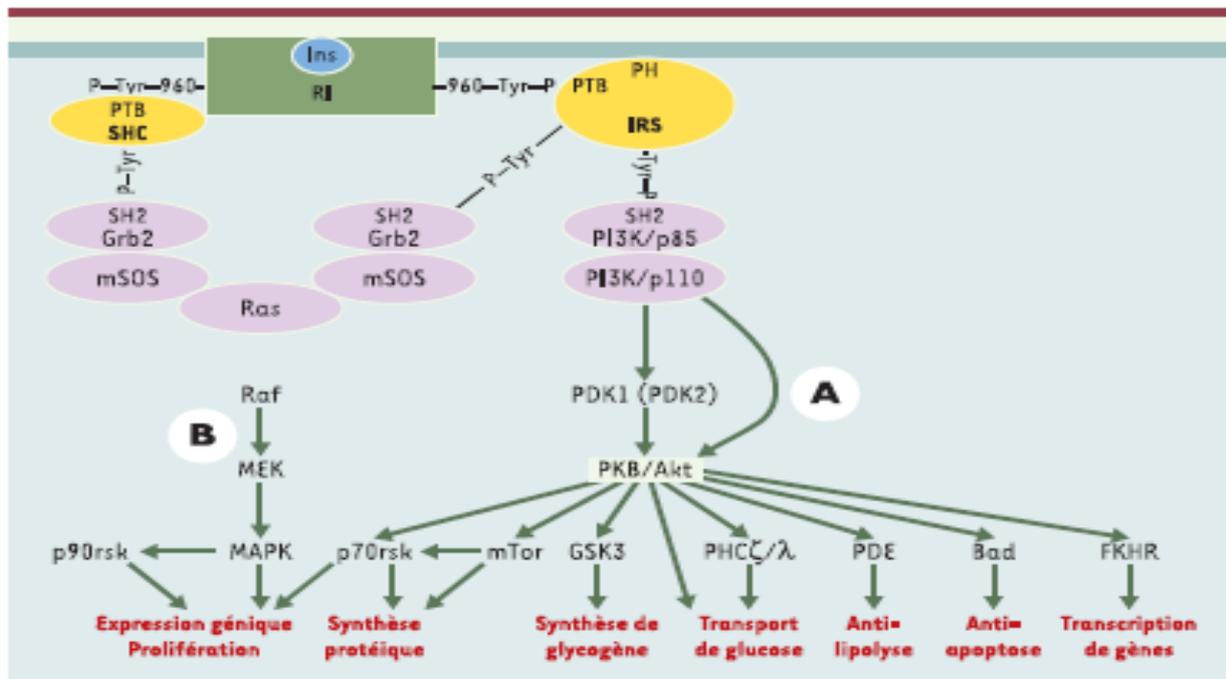


Figure 10: Principales voies de signalisation par l'insuline: (A) voie des PI3kinase et (B) des MAPKinase (Capeau, 2005).

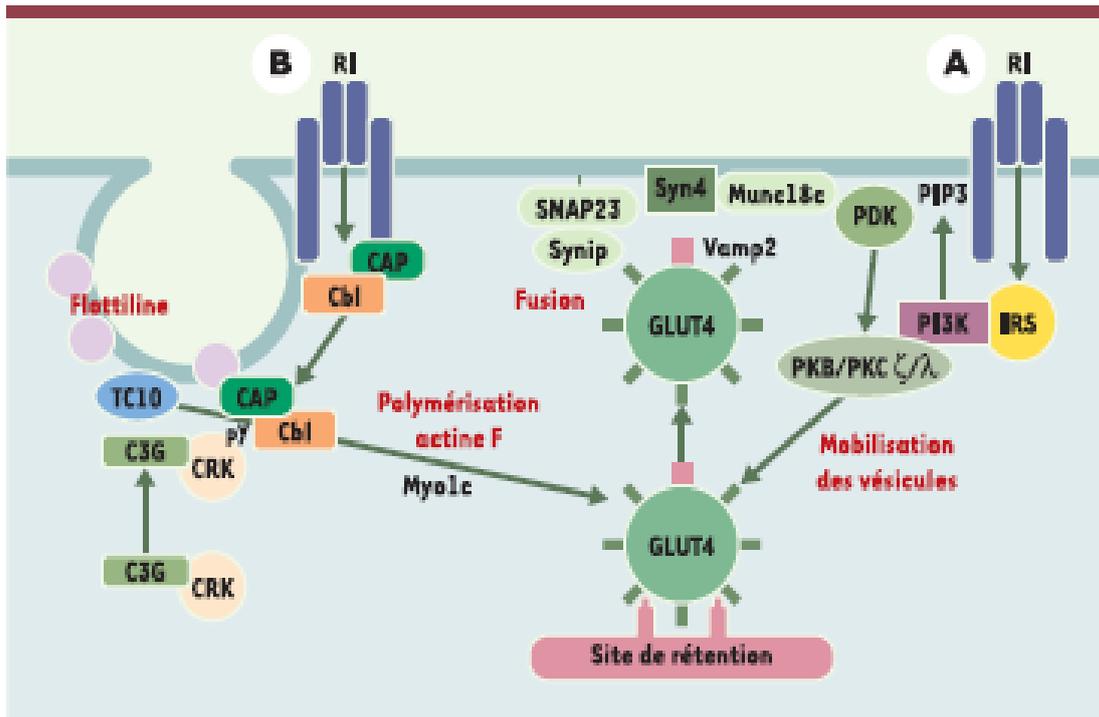


Figure 11: Activation par l'insuline de l'entrée du glucose dans les cellules musculaires et les adipocytes (Capeau, 2005). (A) Voie dépendante de la PI3 (Phosphatidyl-inositol3) Kinase, passe par l'activation de la protéine Kinase B (PKB) et de protéine Kinase (PK) C atypiques, les PKC ξ/λ . (B) Les protéines CAP (c-Cb1 associated protein), en se liant sur IR activé recrute CAP phosphorylée sur un résidu tyrosine par le IR.

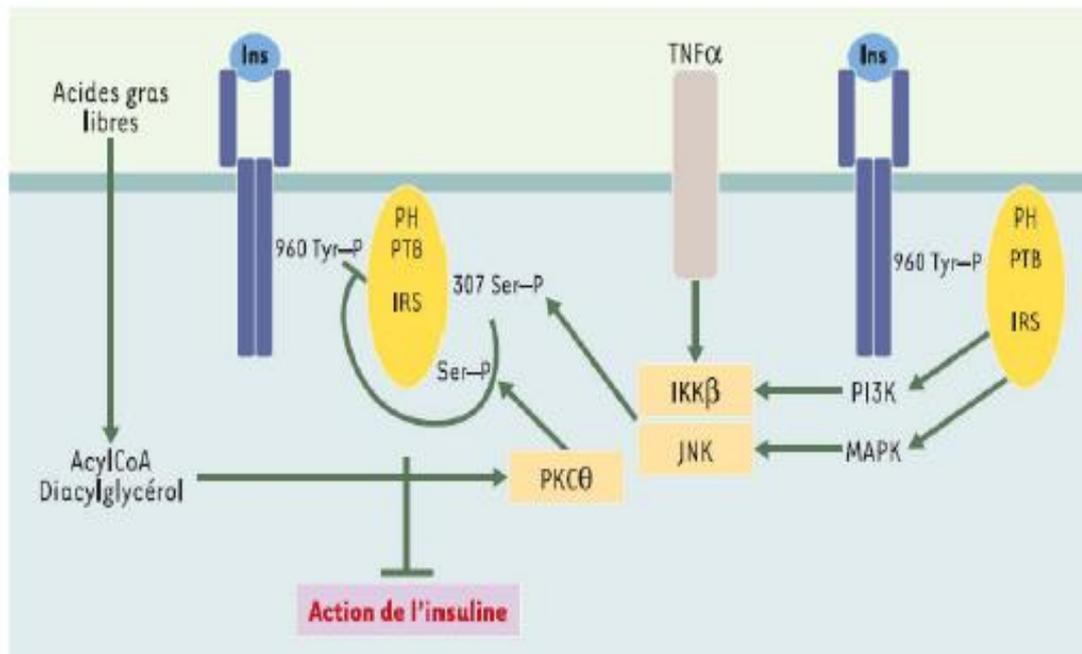


Figure 12: Les mécanismes d'inactivation de la signalisation de l'insuline (Capeau, 2003). Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS.

B/ La voie des Mitogen activated protein kinases (MAPK):

Les MAP kinases ERK1/2 (extracellular signal- regulated kinase) sont des sérines thréonine kinases activées par une très grande variété de signaux extracellulaires. La voie des MAP Kinases constitue l'autre voie de signalisation majeure associée au récepteur de l'insuline. L'activation de cette voie en réponse à l'insuline se fait par l'intermédiaire de IRS-1 (Myers, 1994b; Waters, 1993) ou de la protéine Src homology collagen (Shc) (Yonezawa, 1994; Ouwens, 1994; Sasaoka, 1994), qui peut aussi être recrutée au niveau du récepteur de l'insuline activé. La cascade des MAPK correspond à une série de phosphorylations sur des résidus sérine et thréonine de plusieurs kinases. La protéine Ras-GTP active la protéine Raf, première de ces sérine/thréonine kinases. Celle-ci phosphoryle alors MEK (MAPK ERK activating kinase, appelée aussi MAP kinase kinase (MAPKK)) qui phosphoryle à son tour les MAPK p42 et p44 (ou ERK1 et ERK2, deux isoformes de 42 et 44 kDa) (Vojtek, 1993; Warne, 1993; Kyriakis, 1992). ERK1 et ERK2 phosphorylées sont alors transloquées dans le noyau où elles activent par phosphorylation sur sérine et thréonine divers facteurs de transcription, impliqués dans la croissance et la différenciation cellulaire et dans la synthèse des protéines et du glycogène (Davis, 1995) (**Figure 10**).

C/ La voie Janus kinase (JAK)/*signal transducer and activator of transcription* (STAT):

L'insuline active aussi la voie Janus kinase (JAK) /*signal transducer and activator of transcription* (STAT). Il a été montré que l'insuline induit la phosphorylation et l'activation de JAK-1, JAK-2, STAT-3 et STAT- 5b (Gual, 1998; Carvalheira, 2001, 2003, 2005 ; Mirshamsi, 2004 ; Benomar, 2005a et b). La technique du double hybride permet de montrer l'interaction directe de STAT-5b avec le récepteur de l'insuline au niveau de la tyrosine 960 du domaine juxtamembranaire (Sawka-Verhelle, 1997; Chen, 1997).

III/ Pathologies métaboliques liées au vieillissement.

III-1/ Le syndrome métabolique:

Plusieurs définitions du syndrome métabolique ont été proposées depuis 1998. L'OMS a développé des critères cliniques, simplifiés par la suite par Adult Treatment Panel III of the National Cholesterol Education Program (NCEP ATP III, 2001) et International Diabetes Federation (IDF) afin de rendre le concept du syndrome métabolique "facile à utiliser" pour les cliniciens. Le syndrome métabolique est donc défini par la présence de trois des facteurs suivants ou plus:

- Glycémie : à jeun $\geq 6,1$ mmol/l (ou 1,1 g/l).
- Obésité abdominale : tour de taille > 102 cm chez les hommes et > 88 cm chez les femmes.

- Hypertriglycéridémie : triglycérides $\geq 1,50$ g/l ou 1,7 mmol/l.
- HDL Cholestérol bas : HDLc $< 0,40$ g/l (ou 1,04 mmol/l) chez les hommes et $< 0,50$ g/l (ou 1,29 mmol/l) chez les femmes.
- Hypertension artérielle : tension artérielle: systolique ≥ 130 mm Hg ou diastolique ≥ 85 mm Hg.

Cette définition demeure la plus utilisée en pratique clinique et dans les études scientifiques. Selon ces experts, le syndrome métabolique regrouperait les symptômes suivants: résistance à l'insuline, obésité abdominale, diabète du type II, dyslipidémies athérogènes (augmentation des triglycérides plasmatiques et diminution du HDL cholestérol), augmentation de la pression artérielle et facteurs pro-inflammatoire. Deux facteurs semblent émerger: l'insulinorésistance et l'obésité abdominale qui entraîneraient les autres signes de syndrome métabolique (Reaven, 2006).

L'obésité et l'insulinorésistance ont été identifiées comme les causes primaires et fondamentales du syndrome métabolique, avec un rôle certain de l'obésité étant à l'origine de l'insulinorésistance. Celle-ci se caractérise par une résistance des cellules à l'action de l'insuline, induisant une augmentation de l'insulinémie, conduisant ainsi directement ou indirectement aux différentes autres anomalies du syndrome métabolique. L'insulinorésistance s'accompagne alors d'une augmentation de la glycémie, et peut engendrer un diabète de type II. Le métabolisme lipidique est également régulé en partie par l'insuline, particulièrement en période post prandiale. L'insuline active l'action de la lipoprotéine lipase (LPL), une enzyme localisée dans les capillaires, qui hydrolyse les triglycérides des particules circulantes riches en triglycérides (VLDL et chylomicrons). Cet effet de l'insuline conduit, par conséquent, à une réduction des particules circulantes riches en triglycérides.

III-1. 1/ La résistance à l'insuline:

Selon l'OMS et le groupe européen pour l'étude de l'insulino-résistance (EGIR), l'insulinorésistance constitue la première étape de l'installation du diabète de type 2, dit « non insulino-dépendant ». Cette pathologie touche plusieurs centaines de millions d'individus dans le monde. En France, sa prévalence atteint 4% (Ricci P, 2000). Cette pathologie évolutive se caractérise par trois stades successifs (Muoio DM, 2008).

- 1) Une insulinorésistance initiale qui conduit à l'hyperinsulinémie sans modification de la glycémie.
- 2) Une élévation de la production hépatique de glucose
- 3) Un déficit de sécrétion d'insuline, l'insulinopénie, plus tardif, qui conduit à la nécessité d'entreprendre une insulinothérapie.

L'insulinorésistance est un état qui se caractérise par une diminution de la réponse biologique des tissus périphériques à l'insuline. Bien que l'effet de l'insuline sur les cellules cibles soit multiple, le terme d'insulinorésistance se réfère presque exclusivement à l'effet de l'insuline sur le maintien de

l'homéostasie du glucose. La sensibilité à l'insuline peut être réduite dans de multiples conditions physiologiques (puberté, grossesse, vieillissement...), ou sous l'influence de traitements (corticothérapie, immunosuppression chez les patients greffés, traitement antirétroviral du sida) (Del Prato, 1999; Dean, 2004; White, 2003) ou, en présence de pathologies (obésité, diabète, syndrome polykystique ovarien, syndrome métabolique). L'insulinorésistance qui caractérise le syndrome métabolique, précède, le plus souvent, le diabète de type 2. Il est maintenant admis que l'insulinorésistance a une composante génétique, mais qu'elle peut être acquise par des facteurs environnementaux. Au début, la résistance est compensée par un hyperinsulinisme, ce qui permet de préserver la tolérance au glucose. La détérioration de la tolérance au glucose intervient quand la résistance à l'insuline augmente, ou lorsque la réponse compensatoire de la sécrétion diminue, ou bien quand les deux phénomènes se produisent simultanément (**Figure 13**).

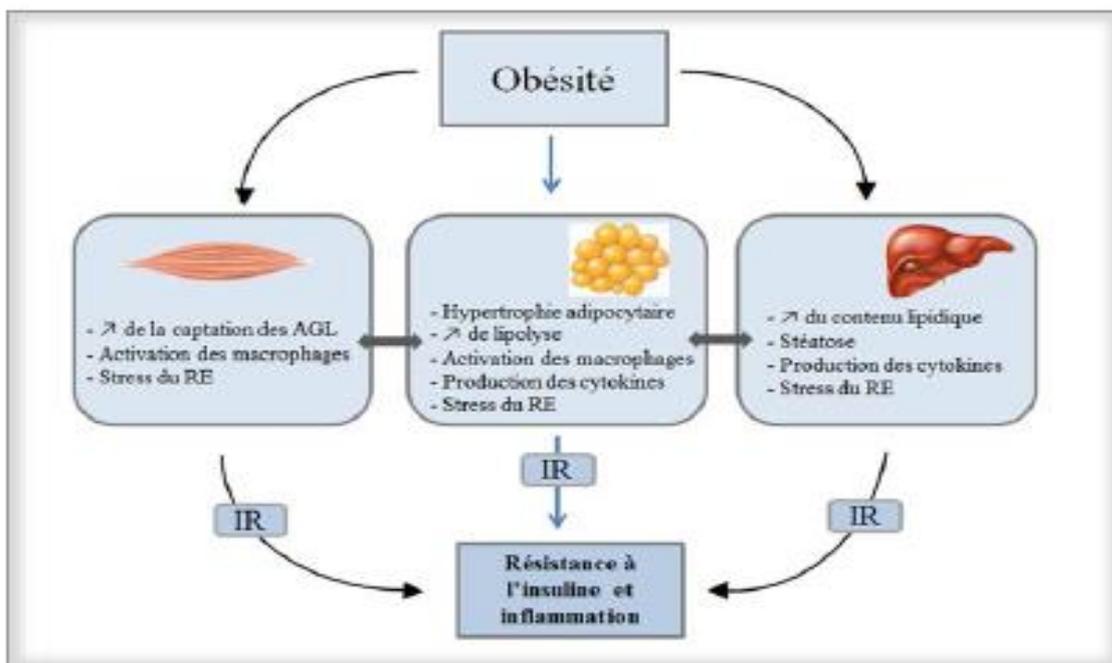


Figure 13: Obésité et développement de l'inflammation et de l'insulinorésistance dans le foie, le tissu adipeux et les muscles (de Luca 2008).

La résistance à l'insuline est davantage exacerbée par la diminution de l'activité physique fréquemment observée lors du vieillissement. De plus, plusieurs facteurs environnementaux, tels que les modifications des régimes, le stress, la présence de maladies chroniques et la polymédication qui en résulte jouent un rôle important dans la prévalence accrue du diabète du type II chez la population âgée. Ainsi, les personnes âgées obèses ayant une alimentation pauvre en glucides complexes et riches en matières grasses sont plus susceptibles de développer le diabète du type II (Meneilly, 2006). Par ailleurs, le diabète surviendrait plus fréquemment chez les sujets âgés ayant les marqueurs du

syndrome métabolique comme l'hypertension, un faible taux du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (High Density Lipoproteins, HDL) et l'hypertriglycéridémie (Guillaume, 2005).

III-1. 1/ Rôle du stress oxydant dans l'insulino-résistance:

Plusieurs études ont évoqué le lien entre l'insulinorésistance et le stress oxydant (Bogdanski, 2012; Sackmann-Sala, 2012). Les travaux de Houstis ont montrés le bénéfice du traitement du stress oxydant dans plusieurs modèles d'insulinorésistance (Houstis, 2006), tandis que les résultats de Martins évoquent le rôle prépondérant de la mitochondrie dans le développement de l'insulinorésistance (Martins, 2012). Par ailleurs, une augmentation de la concentration en insuline, en Acides gras libres et/ou en glucides, augmente la production des ERO, induit un stress oxydant et active les voies métaboliques génératrices d'ERO. Ces effets altèrent la production et l'action de l'insuline favorisant ainsi l'installation du diabète de type 2. Le stress oxydatif modifie la transcription des transporteurs du glucose (augmentation de GLUT-1 et réduction de GLUT-4) (Bloch-Damti, 2005). L'activation de la PKC par les ERO pourrait être impliquée dans l'insulinorésistance entraînant une phosphorylation des résidus sérine/thréonine des IRS bloquant ainsi la signalisation de l'insuline (Berti, 1994; Shulman, 2000; Yu, 2002)

La capacité des ERO à oxyder et endommager l'ADN, les protéines, et les lipides ne serait donc pas le seul mécanisme en cause dans la toxicité des ERO, puisqu'ils seraient aussi capables de fonctionner comme des seconds messagers et d'induire des voies de signalisation cellulaires rédox-sensibles. L'activation de ces voies de signalisation a été mise en cause dans l'insulinorésistance, la diminution de sécrétion de l'insuline, et les dommages cellulaires responsables des complications cliniques du diabète. Ainsi, la production des ERO, induite par l'élévation de la glycémie et l'hyperlipidémie, joue un rôle clé dans l'insulinorésistance et le dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques, par leur capacité à induire l'activation des voies de signalisation rédox-sensibles. En effet, les ERO, dans ces cellules, sont responsables de la diminution de la sécrétion de l'insuline, en réponse à l'augmentation de la concentration de glucose (Noda, 2002; Sakai, 2003), à la diminution de l'expression de gènes clés des cellules β (Kaneto, 2002) et à l'induction de la mort cellulaire (Donath, 1999) (**Figure 14**).

Dans le muscle squelettique, l'altération des fonctions mitochondriales conduirait à une augmentation du stress oxydant et des dérivés des acides gras libres. Ces derniers, avec le stress oxydant, participeraient à l'activation de kinases qui phosphoryleraient les sérines du récepteur de l'insuline IR concourant à la diminution de la phosphorylation sur les tyrosines et donc à une diminution de la réponse à l'insuline. De plus, les ERO stimuleraient la phosphorylation sur les thréonines des JNK (Kamata, 2005) et seraient impliquées dans l'insulinorésistance (Hirosumi, 2002; Kaneto, 2004). Par

ailleurs, le stress oxydant est responsable d'une diminution de la captation du glucose aussi bien dans le muscle que dans le tissu adipeux (Rogers, 1975; Rudich, 1998). Dans le muscle squelettique, le stress oxydant serait à l'origine d'une peroxydation lipidique accrue et d'une réaction inflammatoire (Houstis, 2006). Dans le tissu adipeux, les ERO participeraient au dérèglement de la production des adipocytokines et à l'augmentation du stress oxydant systémique (Furukawa, 2004). Ces ERO adipeux pourraient être issus d'une production accrue par la NADPH oxydase, elle-même potentiellement activée par l'augmentation des acides gras libres. Les ERO participeraient au défaut d'activation de la PI3K et d'Akt, au défaut de la lipogenèse, de la captation du glucose et de la translocation de GLUT 4 à la membrane plasmique (**Figure 11**).

L'efficacité de certains antioxydants, comme l'acide lipoïque, la vitamine E, la vitamine C et le glutathion à améliorer la sensibilité à l'insuline, a été évaluée sur des modèles expérimentaux et dans des essais cliniques chez des individus insulino-résistants et/ou chez des patients de type 2 (Evans, 2000). Ces essais cliniques ont aussi confirmé ce bénéfice (Maddux, 2001; Rudich, 1999). Il semble que le mécanisme, impliqué dans les effets antioxydants, soit médié par la translocation ou l'activation du GLUT-4 (Estrada, 1996; Konrad, 2001; Ramrath, 1999) (**Figure 11**).

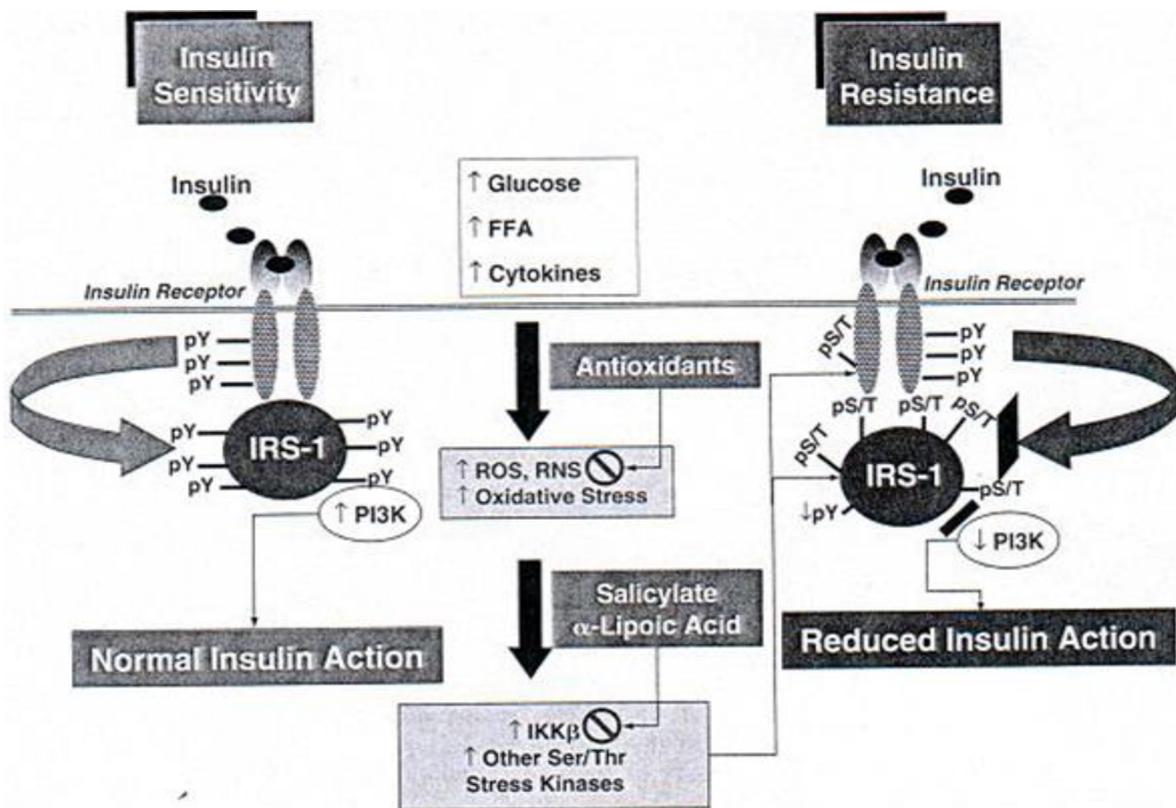


Figure 14: Stress oxydant et insulino-résistance: les bases moléculaires impliquées (Evans, 2005)

III-1. 2/ L'intolérance au glucose du sujet âgé:

Les travaux de Spence mettent en évidence une altération du métabolisme du glucose dès l'âge de 60 ans (Spence, 1920). Cependant, l'intolérance au glucose est caractérisée par une diminution de la sensibilité à l'insuline qui sera compensée par une augmentation de la sécrétion de l'insuline (Larsson, 2000). Ainsi, le métabolisme du glucose dans le muscle squelettique serait altéré (Rowe, 1983; Reaven, 1995) et engendre une augmentation des lipides intra-musculaires (Johnson, 1992; Szczepaniak, 1999). L'accumulation d'acides gras libres associés au diacylglycérol et l'acylCoA, conduirait à l'activation de sérine kinase telle que la PKC responsable des altérations de la voie de signalisation de l'insuline dans le muscle (**Figure 10**) (Dresner, 1999; Itani, 2002) et dans le foie (Kim, 2001). Ces phénomènes concourent à la diminution du transport du glucose dans le muscle (Griffin, 1999), à la diminution de la synthèse musculaire de glycogène (Boden, 1994; Roden, 1996). La sécrétion du glucagon par les cellules α des îlots de Langerhans serait également impliquée dans l'intolérance au glucose (Dunning, 2005). En effet, il existerait une hypersécrétion basale de glucagon (Ahren, 2009) ainsi qu'un défaut de production post-prandiale du glucagon (Muller, 1970; Shah, 2000). Ce phénomène peut avoir plusieurs origines. Ainsi, le défaut d'action paracrine de médiateurs sécrétés par les cellules α peut être invoqué, comme l'insuline, mais également l'acide gamma-amino-butérique ou le zinc (Quesada, 2008). Le diagnostic de l'intolérance au glucose est fondé sur la réalisation d'une hyperglycémie provoquée par voie orale avec une charge de 75 g de glucose (Alberti, 1998). Lors de cette épreuve, la glycémie à jeun est normale mais la glycémie deux heures après la charge de glucose reste élevée (comprise entre 7,8 et 11,1 mmol/L).

III-2/ Rôle des « nouvelles adipokines » et leur implication dans l'insulinorésistance:

Le tissu adipeux est un tissu métaboliquement actif qui secrète une multitude de molécules biologiquement importantes appelées « adipokines » ou « adipocytokines » (Trayhurn, 2004; Bastard, 2006) dont la liste ne cesse d'augmenter. Des complications métaboliques sont en partie dépendantes d'un excès de tissu adipeux viscéral et d'une variation de la production d'adipokines, d'où leur implication majeure, dans la physiopathologie de l'insulinorésistance et dans les complications cardiovasculaires associées à l'obésité. Parmi ces adipokines, on trouve:

1- L'adiponectine :

Elle a été découverte en 1995 et identifiée dans des préadipocytes, 8 jours après leur différenciation (Scherer, 1995). C'est une protéine de 30kDa, de 244 acides aminés chez l'Homme, exprimée quasi exclusivement par le tissu adipeux. Chez l'Homme, le gène de l'adiponectine est situé sur le bras long du chromosome 3 (région 3q27). L'adiponectine agit principalement via deux récepteurs, AdipoR1 et

AdipoR2, exprimés principalement dans le muscle et dans le foie, mais aussi dans d'autres tissus et organes. L'adiponectine a été décrite comme hormone anti-diabétogène et jouerait un rôle sensibilisateur à l'insuline.

L'association de l'adiponectine avec la région C-terminale extracellulaire de son récepteur principal, l'adipoR1, entraîne la liaison de la protéine adaptatrice 22 contenant un domaine d'homologie à la pleckstrine, un domaine liant la phosphotyrosine et un motif de glissière à leucine (APPL1) en N-terminal intracellulaire (Mao, 2006) (**Figure 15**). L'APPL1 sert d'intermédiaire pour l'activation de plusieurs voies de signalisation (Cheng, 2007). La protéine adaptatrice peut se lier à une petite hydrolase du GTP (GTPase), Rab5. Celle-ci active la translocation du transporteur de glucose Glut4 qui active la capture du glucose dans les muscles (Mao, 2006). L'APPL1 active deux autres enzymes qui par la translocation de Glut4 à la membrane vont augmenter la capture du glucose: la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) SP28 (Kadowaki, 2006) et l'adénosine monophosphate (AMP) kinase (AMPK) (Deepa, 2009). La phosphorylation de l'AMPK entraîne aussi la phosphorylation de l'acétyl-coenzyme A carboxylase (ACC), inhibant ainsi l'enzyme et activant l'oxydation des acides gras dans les muscles et le foie (Lafontan, 2006). Dans les cellules endothéliales, l'activation de l'AMPK permet la phosphorylation de l'eNOS qui, par la production de NO, entraîne la vasodilatation des vaisseaux. Dans ces cellules, l'AMPK activée cause les effets cytoprotecteurs de l'adiponectine en inhibant la voie du NFκB (Deepa, 2009). L'adiponectine a aussi des effets de sensibilisation à l'insuline. Ces effets sont dépendants de la protéine adaptatrice APPL1. En effet, l'APPL1 se lie avec Akt et la sous-unité catalytique de la PI3 kinase et rapproche ces molécules pour faciliter l'activation de l'Akt par la PI3 kinase (Mitsuuchi, 1999). L'adiponectine ne peut pas engendrer la phosphorylation de l'Akt mais augmente la stimulation par l'insuline de l'Akt. Une fois phosphorylée, l'Akt active la translocation de Glut4 et augmente la capture du glucose (Mao, 2006). L'adiponectine a aussi des effets antidiabétiques via l'AMPK et PPARα (Yamauchi, 2003).

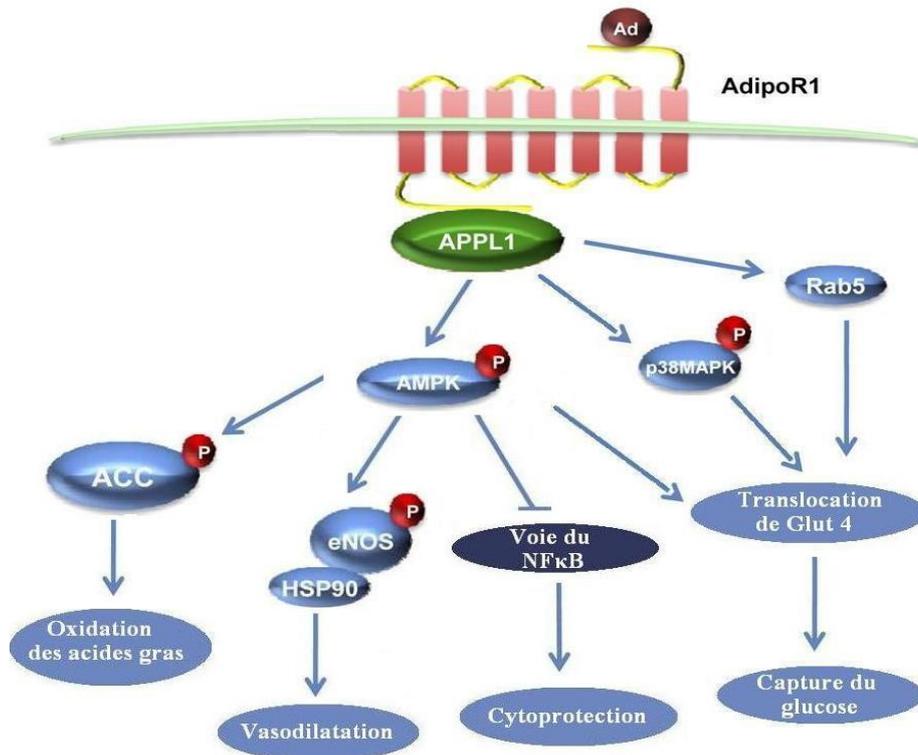


Figure 15: Principales voies de signalisation de l'adiponectine (Deepa, 2009).

L'adiponectine est associée à plusieurs pathologies principalement en lien avec les maladies cardiovasculaires, l'asthme (Sood, 2008) ou le cancer (Michalakis, 2007). Elle est aussi associée au syndrome métabolique (Saely, 2007). Cependant, les taux d'adiponectine sont plus bas chez les patients obèses atteints du syndrome métabolique que chez les patients obèses sans celui-ci (Behre, 2007). Dans l'hypertension, une baisse d'adiponectine a été observée (Dzielińska, 2003). Le taux d'adiponectine est associé à la pression artérielle chez les hypertendus et les effets sur l'adiponectine des médicaments traitant l'hypertension correspondent aux effets de ces médicaments sur la pression artérielle (Yilmaz, 2007). Il a aussi été démontré que les niveaux d'adiponectine peuvent prédire la pression artérielle chez certaines populations (Francischetti, 2007) (**Figure 16**).

Une alimentation riche en lipides est liée à une baisse de l'adiponectine (Bullen, 2007). L'implication dans la régulation de l'homéostasie énergétique est l'une des premières fonctions qui a pu être attribuée à l'adiponectine (Fruebis, 2001). Certaines études soutiennent une corrélation inverse entre la résistance à l'insuline et l'adiponectine (Blüher, 2006; Otsuka, 2007). La répression des récepteurs de l'adiponectine favorise l'insulino-résistance et l'intolérance au glucose (Yamauchi, 2007) (**Figure 13**). Il a été montré que la transduction du signal de l'adiponectine par AdipoR1 et AdipoR2 implique l'activation de l'AMP-activated protein kinase, PPAR α et PPAR γ ce qui augmente l'oxydation des acides gras et réduit la synthèse du glucose dans le foie (Berg, 2005; Blüher, 2006). L'adiponectine

augmente la captation du glucose via GLUT 4 (Yamauchi, 2002) et diminue la néoglucogenèse (Berg, 2001). Au niveau cardiovasculaire, des concentrations élevées d'adiponectine seraient corrélées avec une diminution du risque d'infarctus du myocarde chez l'homme (Pischon, 2004).

Toutes les études montrent que la concentration plasmatique de l'adiponectine est diminuée, contrairement à la leptine, chez les obèses et qu'elle est corrélée négativement à l'indice de masse corporelle (Berg, 2002; Tsao, 2002; Arita, 1999) (**Figure 16**). Elle est également réduite chez les diabétiques de type 2 ainsi que chez les patients atteints de pathologies coronariennes (Hotta, 2000 ; Otake, 2008). Il a aussi été confirmé chez l'humain que les taux d'adiponectine sont plus élevés chez la femme et qu'ils diminuent avec l'âge (Bullen, 2007; Cnop, 2003; Storgaard, 2007).

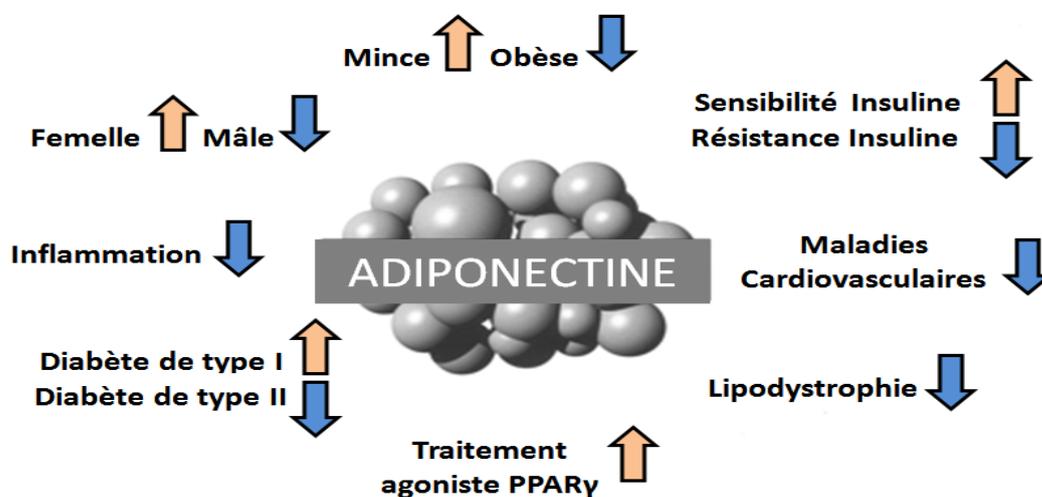


Figure 16: Variations des concentrations d'adiponectine circulante dans différentes situations. Situations dans lesquelles les concentrations d'adiponectine circulante augmentent ou diminuent (Scherer, 2006).

2- La leptine

La leptine est une hormone peptidique non glycosylée de 16kDa, constituée de 167 acides aminés, appartenant à la super famille des cytokines de classe 1 et produite par le gène *Ob* (Zhang, 1994). La leptine est majoritairement secrétée par les adipocytes du tissu adipeux blancs (Zhang, 1994; Green, 1995). Elle est sous le contrôle de différents facteurs notamment le jeûne et la restriction alimentaire qui provoquent une forte diminution de la synthèse de leptine, alors que la prise alimentaire et une suralimentation augmentent la leptinémie (Porte, 1998). D'autres facteurs ou hormones tels que l'insuline, le TNF- α , l'IL-1, la prolactine ou les glucocorticoïdes (Saladin, 1995; Sliker, 1996; Gualillo, 1999; Zhang, 2000) stimulent l'expression de la leptine. Le récepteur de la leptine est issu du gène *db*. Il est principalement situé dans le système nerveux central, mais également dans les

adipocytes et les cellules endothéliales. Il appartient à la famille des récepteurs des cytokines. Son activation induit le recrutement de JAK2 conduisant à l'activation de deux voies de signalisation: celle de STAT 3, induisant la prise alimentaire et la production hépatique de glucose, et celle de l'insuline, principalement via la PI3K (Niswender, 2001; Buettner, 2006), en particulier en supprimant la lipogenèse (Buettner, 2006). L'absence de leptine ou l'inactivation de son récepteur induit une hyperphagie massive et une obésité dans les modèles murins (Friedman, 1998) aussi bien que chez l'Homme (Farooqi, 2007; Montague, 1997) (**Figure 17**).

Les travaux de notre laboratoire (et d'autres), ont montré que la leptine et l'insuline partagent plusieurs voies de signalisation et qu'il existe un dialogue entre ces deux hormones. Ainsi, la leptine et l'insuline interagissent au niveau des voies JAK-2/STAT-3, IRS/PI3K et MAPK ERK1/2. L'interaction entre la leptine et l'insuline s'exerce aussi bien au niveau périphérique que dans l'hypothalamus. L'existence d'un mécanisme de désensibilisation croisée entre leurs récepteurs a été récemment démontrée au niveau neuronal. En effet, sur une lignée de neuroblastome humain (SH-SY5Y) une exposition chronique à l'insuline altère les niveaux d'expression du récepteur de la leptine ainsi que la signalisation en aval et vice versa (Benomar, 2005, 2006, 2009). Par ailleurs, le vieillissement s'accompagne de profondes modifications de la composition corporelle et l'accumulation de masse grasse associées à une forte augmentation de la concentration plasmatique en leptine (Monroe, 2000). Ainsi, il a été proposé que l'effet satiétogène de la leptine contribuerait à la diminution des apports protéino-énergétiques des personnes âgées (Raynaud-Simon, 2009).

Toutefois, plusieurs mécanismes permettent la désensibilisation des voies de signalisation de la leptine. Un des premiers mécanismes mis en jeu dans la régulation négative de la signalisation de la leptine est l'internalisation des complexes leptine/récepteur qui conduit d'une part, à la dégradation de l'hormone et d'autre part, à la diminution du nombre de récepteurs exprimés à la surface cellulaire, réduisant ainsi la sensibilité à l'hormone. On trouve aussi les phosphotyrosines phosphatases tels que SHP-2 et PTP1-B qui jouent un rôle important dans le rétrocontrôle de la signalisation de la leptine. Cependant, la phosphatase SHP-2 est impliquée dans la déphosphorylation du récepteur et des protéines JAK2 et STAT3 (Carpenter, 1998; Li, 1999; Banks, 2000) et La phosphatase PTP1-B agit en déphosphorylant les protéines JAK2 et STAT3 (Cheng, 2002; Kaszubska, 2002; Zabolotny, 2002; Lund, 2005). Enfin, un dernier mécanisme de rétrocontrôle implique les protéines SOCS. Elles sont recrutées au niveau des récepteurs et bloquent la transduction du signal selon trois modes d'action : par encombrement stérique, empêchant ainsi le recrutement des STAT et des autres protéines de signalisation, par inhibition de l'activité kinase des JAK ou encore par ubiquitination des différents acteurs impliqués dans les voies de signalisation des cytokines (récepteurs, JAK, STAT, IRS), puis

les dirigent vers la voie de dégradation via le protéasome (Bjørbaek, 1999a; Kile, 2001; Krebs, 2001; Zhang, 1999; Piessevaux, 2008).

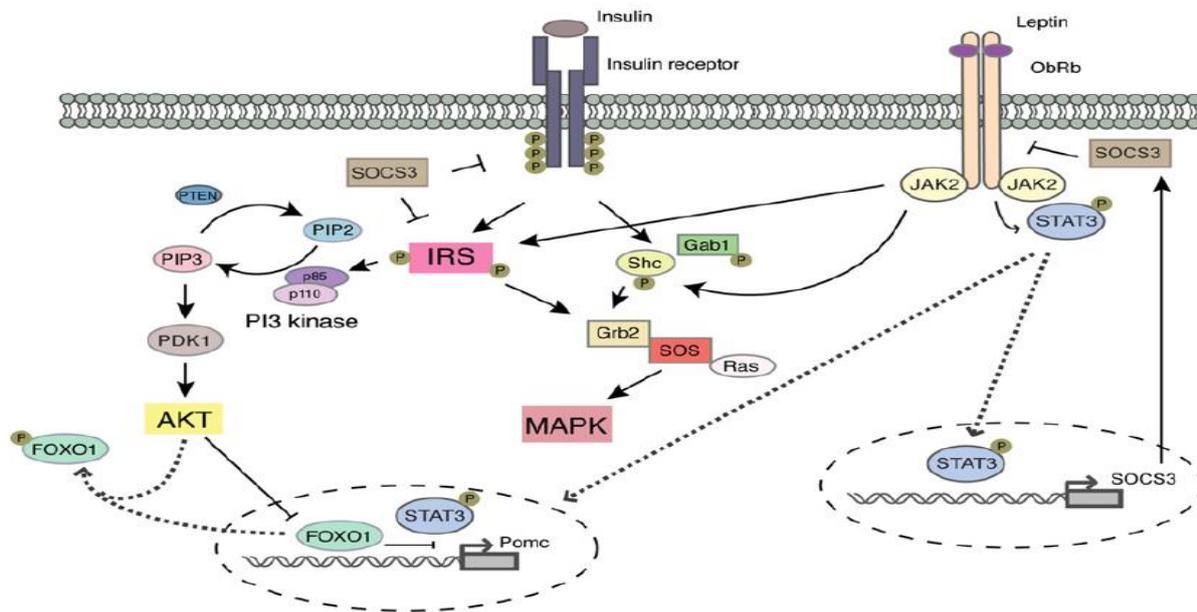


Figure 17: Voie de signalisation de la leptine et insuline (Konner AC, 2012)

Des études ont montrées qu'au niveau du tissu adipeux, la leptine stimule la lipolyse, diminue le stockage des acides gras et l'utilisation du glucose (Frühbeck, 1998; López-Soriano, 1998; Wang, 1999). De plus, la leptine agit sur le tissu adipeux brun, où elle stimule la thermogénèse et l'expression des protéines découplantes UCP1, UCP2 et UCP3, et sur le tissu adipeux blanc, où elle stimule l'expression de UCP1 et de UCP2 (Cusin, 1998; Gong, 1997; Commins, 1999; Scarpace, 1998). Les UCP entraînent un découplage de la phosphorylation oxydative mitochondriale, qui résulte en la production d'une énergie thermique, dissipée sous forme de chaleur. Au niveau central, la leptine gagne le système nerveux central (SNC) en franchissant la barrière hématoencéphalique (BHE) via ObRa (la forme courte du récepteur) présent sur les cellules endothéliales formant cette barrière (Elmqvist, 1998; Hileman, 2002; Maresh, 2001; Bouret, 2008b). Ce récepteur permet l'entrée de la leptine plasmatique dans le liquide céphalorachidien (LCR). Toutefois, le transport de cette hormone pourrait également se faire par simple diffusion au niveau des régions cérébrales notamment au niveau de l'hypothalamus par ObRb (la forme longue du récepteur) (Zlokovic, 2000) ou elle agit principalement au niveau du noyau arqué (ARC) en inhibant l'expression des neuropeptides orexigènes NPY/AgRP (Stephens, 1995; Schwartz, 1996; Morrison, 2005) et activant l'expression des neuropeptides anorexigènes POMC/CART (Thornton, 1997; Elias, 1998). Chez une personne en bonne santé, les concentrations plasmatiques de leptine sont d'environ 3-5ng/mL alors qu'elles sont de 90-95ng/mL chez une personne souffrant d'obésité morbide (Shek, 1998). Chez la plupart des

obèses, le taux de leptine plasmatique est anormalement élevé suggérant un état de résistance, centrale et périphérique, à la leptine.

3- Facteur de Nécrose Tumorale alpha (TNF α)

Le TNF- α est une cytokine pro-inflammatoire principalement produit par les macrophages et les lymphocytes (Shahbazian, 1999; Jeevanandam, 1999). Les adipocytes produisent également du TNF- α chez les rongeurs et en faible quantité chez l'Homme (Lacquemant, 2003). Ses effets biologiques dépendent de sa concentration. A basse concentration, il agit localement comme régulateur de l'immuno-inflammation (effets autocrines et paracrines). A forte concentration, il entre dans la circulation et agit comme un facteur endocrine (Arner, 2003 ; Fasshauer, 2003 ; Kopp, 2003). La production de TNF- α est augmentée pendant l'obésité et est impliquée dans le développement de l'insulino-résistance en altérant la signalisation de l'insuline par une action autocrine ou paracrine (Hotamisligil, 1993, 2000). Cependant, la phosphorylation sur sérine des IRS induit la régulation négative de la signalisation de l'insuline et donc potentiellement dans l'installation d'une résistance à l'insuline et du DT2, en lien avec l'obésité (Boura-Halfon, 2009). Ainsi, une phosphorylation sur sérine/thréonine d'IRS-1 par la PI3K en réponse au TNF- α pourrait jouer un rôle important dans l'installation d'une résistance à l'insuline chez les souris obèses (Le Marchand-Brustel, 1999).

Le TNF- α augmente la production des acides gras libres ainsi que l'expression de la leptine dans le tissu adipeux, ce qui peut également avoir un effet indirect sur le développement de la résistance à l'insuline des muscles et du foie (Arner, 2003). Les effets reliant la sensibilité à l'insuline et le TNF- α ont été bien démontrés chez les rongeurs. Chez l'Homme, l'augmentation de la masse du tissu adipeux n'entraîne pas de modifications significatives de la concentration de TNF- α . La neutralisation de son activité biologique n'a pas, non plus, d'effet majeur sur la sensibilité à l'insuline chez des sujets diabétiques. Cependant un polymorphisme génétique de TNF- α est associé à son expression et au risque de diabète (Rosmond, 2003; Kubaszek, 2003).

Chez les obèses, le tissu adipeux se caractérise par une infiltration de macrophages, probablement en raison de la sécrétion par les adipocytes de MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) en réponse au TNF- α , ce qui augmente la réponse inflammatoire (Tataranni, 2005). Le TNF- α et l'IL-6 interagissent, le TNF- α régulant l'expression d'IL-6 et IL-6, exerçant une régulation négative sur l'expression de TNF- α . La répartition différente des graisses liée au vieillissement induit une modification du profil de sécrétion des adipokines. Cependant, les taux circulants des cytokines inflammatoires TNF α , la protéine C-réactive (CRP), et l'IL-6 sont élevées pendant le vieillissement.

4- L'Interleukine 6 (IL-6)

En l'absence de processus inflammatoire aigu, le tissu adipeux, et essentiellement le tissu adipeux viscéral (Fried, 1998; Fain, 2004), secrète 30% d'IL-6 (Mohamed-Ali, 1997). La sécrétion d'IL-6, par certaines cellules comme les macrophages, est induite par d'autres cytokines comme l'IL-1 et le TNF- α . Cette production est inhibée par l'IL-4 et l'IL-10. Les concentrations plasmatiques d'IL-6 sont plus élevées chez les obèses et les sujets insulino-résistants (Vozarova, 2001; Bastard, 2000 ; Bastard, 2006). Une concentration plasmatique élevée d'IL-6 est prédictive du risque de survenue d'un diabète de type 2 (Pickup, 1997 ; Pradhan, 2001). Il a été montré récemment que l'IL-6 diminue l'expression des récepteurs à l'insuline dans les tissus périphériques. Il agit comme un inhibiteur de l'adipogénèse et inhibe la sécrétion d'adiponectine (Gnacinska, 2009). Les catécholamines stimulent la sécrétion d'IL-6, in vivo et in vitro, par des adipocytes humains (Mohamed-Ali, 2001; Path, 2001; Vicennati, 2002). Il apparaît ainsi que l'insulino-résistance induite par les agonistes β 3 adrénergiques et le TNF- α serait due, en partie, à une augmentation de l'expression d'IL-6 par les adipocytes. L'IL-6 agirait essentiellement via une diminution de l'insulino-sensibilité avec pour principales cibles l'IRS-1 et la PI3-Kinase Ce mécanisme a été montré sur des cellules 3T3-L1 et des cultures primaires d'hépatocytes murins.

Une des actions majeures de l'IL-6 est le contrôle de la production hépatique de protéines inflammatoires comme la protéine C-réactive (CRP). Il y a une relation positive entre les concentrations d'IL-6 dans le tissu adipeux et les concentrations circulantes de CRP (Maachi, 2004) qui est un important facteur de risque cardiovasculaire (Ridker, 2003).

III-3/ Obésité liée au vieillissement:

L'International Diabetes Federation (IDF) a considéré que «l'épidémie» d'obésité serait un des moteurs majeurs de l'augmentation de la prévalence du syndrome métabolique dans le monde. En effet, l'obésité favorise l'hyperglycémie, l'hypertension, l'augmentation des acides gras libres dans le plasma (Boden, 2011), l'hypertriglycéridémie, les maladies cardiovasculaires et la résistance à l'insuline (Liu, 2010). L'augmentation de la masse adipeuse augmente la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires tel que le TNF α et altère la sécrétion de l'adiponectine considérée comme hormone anti-diabète et anti-athérogène.

Plusieurs études ont suggéré l'existence d'un lien entre l'obésité et les démences liées à l'âge et que l'obésité, chez les personnes âgées, constitue un facteur du déclin de mobilité (Vincent, 2010).

Chez les adultes souffrant d'obésité, en particulier lorsqu'elle est associée à d'autres pathologies métaboliques, le déclin des facultés cognitives lié à l'âge pourrait être plus rapide que dans le reste de la population (Ogden, 2013). Une étude épidémiologique portant sur 6 000 cinquantenaires pendant

dix années a mis en évidence un lien entre l'obésité et l'accélération du déclin cognitif associé au vieillissement (Singh-Manoux, 2012). Cependant, les chercheurs pensent que ces effets sont la conséquence de dysfonctionnements induits par l'obésité tels que les pathologies vasculaires et la modification du profil de sécrétion du tissu adipeux chez les personnes âgées.

Des estimations récentes indiquent que plus de deux tiers des personnes âgées de 60 ans et plus sont en surpoids et qu'un tiers (35,4%) des adultes de 60 ans et plus sont obèses (Ogden, 2013). Il a été démontré qu'en l'absence d'obésité, la sarcopénie seule n'est pas associée à des difficultés physiques, alors qu'en présence de l'obésité, la sarcopénie tend à accroître la difficulté pour certaines fonctions physiques (Rolland, 2009).

III-4/ Diabète du type II (DT2) et vieillissement:

Le nombre de diabétiques dans le monde était estimé à 135 millions, en 1995. En 2010, il est estimé à plus de 220 millions, selon l'OMS. L'évolution prévue est de 324 millions en 2025, ce qui représente environ 6,3% de la population mondiale (Simon, 2005). Le diabète de type 2, soit plus de 90% des diabétiques, représente un problème de santé publique. L'augmentation du nombre de diabétiques est due essentiellement aux changements de mode de vie: sédentarisation et surabondance de l'offre alimentaire favorisant ainsi le surpoids et l'obésité.

En France, depuis 1980, on observe une augmentation de la prévalence du diabète de 3 à 5% par an associée à un accroissement du nombre de personnes atteintes d'obésité. D'autres études épidémiologiques réalisées en 2001 ont reporté que plus de la moitié des diabétiques ont plus de 65 ans (54%). Par conséquent, en raison du vieillissement de la population et de la progression de l'obésité, le nombre de diabétiques âgés sera en progression continue.

En effet, le vieillissement et la croissance de la population représentait 70% de l'augmentation de la prévalence mondiale du diabète 1980-2008 (Danaei, 2011). En outre, au cours des deux dernières décennies, la plus forte augmentation en variation absolue de la prévalence du diabète a été observée chez les personnes âgées de 65 ans et plus (Cheng, 2013). Selon le « Centers for Disease Control and Prevention » (CDC), le DT2 est une maladie du vieillissement puisque la prévalence de diagnostic et de diabète non diagnostiqué est de 26,9% chez les personnes âgées de 65 ans et plus, ce qui est le plus élevé parmi tous les groupes d'âge (CDC, *National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States*, 2011).

La prise en charge du diabète dans la population âgée demeure un challenge. En effet, le vieillissement s'accompagne des modifications du métabolisme glucidique favorisant la survenue du diabète, tels que :

- Diminution de la sécrétion de l'insuline due à une baisse de la réponse des cellules β pancréatiques aux variations de la glycémie.
- Diminution de la sensibilité à l'insuline, s'expliquant en partie par des modifications de la composition corporelle avec diminution de la masse maigre et augmentation de la masse grasse.
- Diminution de la sensibilité pancréatique au GLP-1, qui a un rôle potentialisateur concernant la sécrétion de l'insuline.

Contrairement aux personnes âgées de plus de 75 ans, les centenaires ont mieux conservé la tolérance au glucose et à la sensibilité à l'insuline (Paolisso, 1996).

Le DT2 accélère le processus du vieillissement (Morley, 2008). En plus des complications micro- et macrovasculaires bien reconnues, les personnes âgées diabétiques peuvent également souffrir d'autres maladies telles que la dépression, les troubles cognitifs, la faiblesse musculaire (sarcopénie), les chutes et les fractures (Kim, 2012). De plus, le diabète est associé à une prévalence et une incidence accrues des syndromes gériatriques tels que les incapacités fonctionnelles, la dépression, les chutes, l'incontinence urinaire, la malnutrition, le déclin cognitif et les troubles de la vision (Corriere, 2013; Araki, 2009). L'étude de Lu et collaborateurs (2009) a montré un déclin plus rapide de la fonction cognitive chez les patients diabétiques en comparaison aux non diabétiques. Leurs analyses ont également démontré que le DT2 est associé à une augmentation de 47% du risque pour tout type de démence, 39% pour la maladie d'Alzheimer, et 30% pour la dépression. De plus, le DT2 est associé à un risque accru d'une mobilité réduite et des incapacités physiques parmi les personnes âgées (Lu, 2009).

III-5/ Résistance à la leptine chez la personne âgée:

La résistance à la leptine observée chez les sujets obèses est caractérisée par la baisse de l'efficacité de la leptine à réguler l'homéostasie énergétique (Scarpace, 2009). Les mécanismes sous-jacents de la résistance à la leptine ne sont pas encore clairement élucidés. En revanche, trois hypothèses ont été proposées:

- (1) altération du franchissement de la barrière hémato-encéphalique de la leptine (Burguera, 2000; Banks, 1999 ; Couce, 2001).
- (2) diminution de l'expression de ObRb au niveau hypothalamique; et / ou
- (3) altération de la signalisation de la leptine au niveau hypothalamique associées à la surexpression de régulateurs négatifs comme SOCS-3 et PTP1B (Myers, 2008; Munzberg, 2005 a, b ; Enriori, 2007; White, 2009).

La première hypothèse est controversée. En effet, certains auteurs suggèrent que la leptine est transportée à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), par un système de transport actif, alors

que d'autres suggèrent que la BHE est lâche et « fenestrée » au niveau du noyau arqué et permet le passage de la leptine et d'autres signaux hormonaux et métaboliques (Banks, 2004; Levin, 2004). Une diminution de transport de la leptine, à travers la BHE, a été démontrée chez les rongeurs rendus obèse par un régime alimentaire (Levin, 2004). Par ailleurs, la résistance à la leptine peut être partiellement corrigée par une injection intra-cérébroventriculaire (ICV) de la leptine (Muzumdar, 2006). En outre, les niveaux de leptine dans le liquide céphalo-rachidien sont plus faibles chez les personnes obèses, en dépit du taux de leptine élevée dans le sérum, ce qui renforce, par conséquent, l'idée d'une altération de transport dans le cerveau (Schwartz, 1996). Les triglycérides plasmatiques favorisent aussi la résistance à la leptine en altérant le transport à travers la BHE (Banks, 2004).

De plus le vieillissement est caractérisé par une diminution des niveaux d'expression d'ObRb au niveau hypothalamique altérant ainsi la signalisation de la leptine et favorisant la résistance à la leptine (Fernandez-Galaz, 2001; Scarpance, 2001). La perfusion périphérique de la leptine, chez les rats âgés obèses, induit des réponses anorexiques et une perte de poids moins importante que chez les jeunes rats (Li, 1997; Scarpance, 2001). Le défaut d'action de la leptine, avec l'âge, est également mis en évidence dans le modèle de souris transgéniques qui surexprime la leptine car malgré la sécrétion continue de leptine, les souris âgées montrent une augmentation du poids corporel (Qiu, 2001). Le vieillissement est donc associé à une insuffisance de l'action de la leptine, indépendamment de l'obésité et de la répartition de la graisse corporelle (Gabriely, 2002). Toutefois, l'échec de la leptine à réguler la prise alimentaire, la distribution de la graisse corporelle, et l'action de l'insuline, suggèrent que la résistance à la leptine joue un rôle majeur dans le syndrome métabolique lié au vieillissement.

III-6/ Obésité et résistance à la leptine liées au vieillissement:

L'obésité est en augmentation alarmante à travers le monde y compris dans les pays émergents. En effet, en 2012, l'OMS a estimé que plus de 1,4 milliard d'adultes sont en surpoids et que plus de 500 millions sont obèses. Cette situation pose de graves problèmes économiques et de santé publique; les principales causes de mortalité (tels que: les maladies cardiovasculaires et le cancer) sont fortement associée à l'obésité (Mokdad, 2003). L'obésité réduit la durée de vie et accélère les processus cellulaires similaires au vieillissement tels que le stress oxydatif et les perturbations des voies de l'homéostasie (Russell, 2007; Peto, 2010). L'une des caractéristiques commune à l'obésité et au vieillissement est la dérégulation des tissus adipeux blanc (WAT) et brun (BAT) (Miller, 1991; Maury, 2010). Le tissu adipeux blanc est capable de sécréter un grand nombre d'adipokines telles que la leptine, l'adiponectine et la résistine (Kershaw, 2004). Le tissu adipeux sécrète aussi des facteurs pro-inflammatoires tels que TNF α et IL-6 qui favorisent la résistance à l'insuline, l'hypertension et la dyslipidémie (Scarpellini, 2012). Une autre caractéristique commune à l'obésité et au vieillissement

est le développement de la résistance à l'insuline et à la leptine ce qui favorise le dérèglement du contrôle de l'homéostasie énergétique (Ma XH, 2002).

III-7/ Inflammation du tissu adipeux lié au vieillissement:

La réaction inflammatoire est un des modes de réponse les plus fréquents de l'organisme face à une agression. Le vieillissement est associé à une redistribution importante de graisse entre les différents dépôts. Le poids corporel augmente généralement jusqu'à l'âge moyen (de 30-50 ans) et diminue par la suite (Baumgartner, 1995). Cependant, le pic total de masse grasse, chez les plus jeunes et les vieux (de 40-70 ans), entraîne une augmentation du pourcentage de graisse corporelle (**Figure 19**) (Cartwright, 2007). Cette augmentation de graisse corporelle, chez les personnes âgées, est le résultat de l'augmentation de la masse grasse et la perte de masse maigre (muscle squelettique). Il a été démontré que chez les sujets âgés de plus de 85 ans le vieillissement est lié à la redistribution du tissu adipeux du dépôt sous-cutané vers le compartiment viscéral et les sites ectopiques à savoir le muscle, le foie et la moelle osseuse (Kuk, 2009). Cette redistribution peut potentiellement contribuer au dysfonctionnement du tissu adipeux lié à l'âge (Unger, 2006; Rosen, 2005), ce qui est aussi accentué par l'accumulation ectopique des lipides dans les muscles altérant ainsi leur sensibilité à l'insuline (Goodpaster, 2003). Le vieillissement affecte aussi l'activité métabolique du tissu adipeux brun (BAT) chez les rongeurs et l'homme altérant ainsi le rôle thermorégulateur de ce tissu (Pfannenber, 2010; McDonald, 1999). Ueno et collaborateurs ont montré que l'activité et la capacité thermogénique du BAT sont diminuées chez les souris âgées minces et obèses, mais cet effet est amplifié chez les obèses (Ueno, 1998) (**Figure 18**).

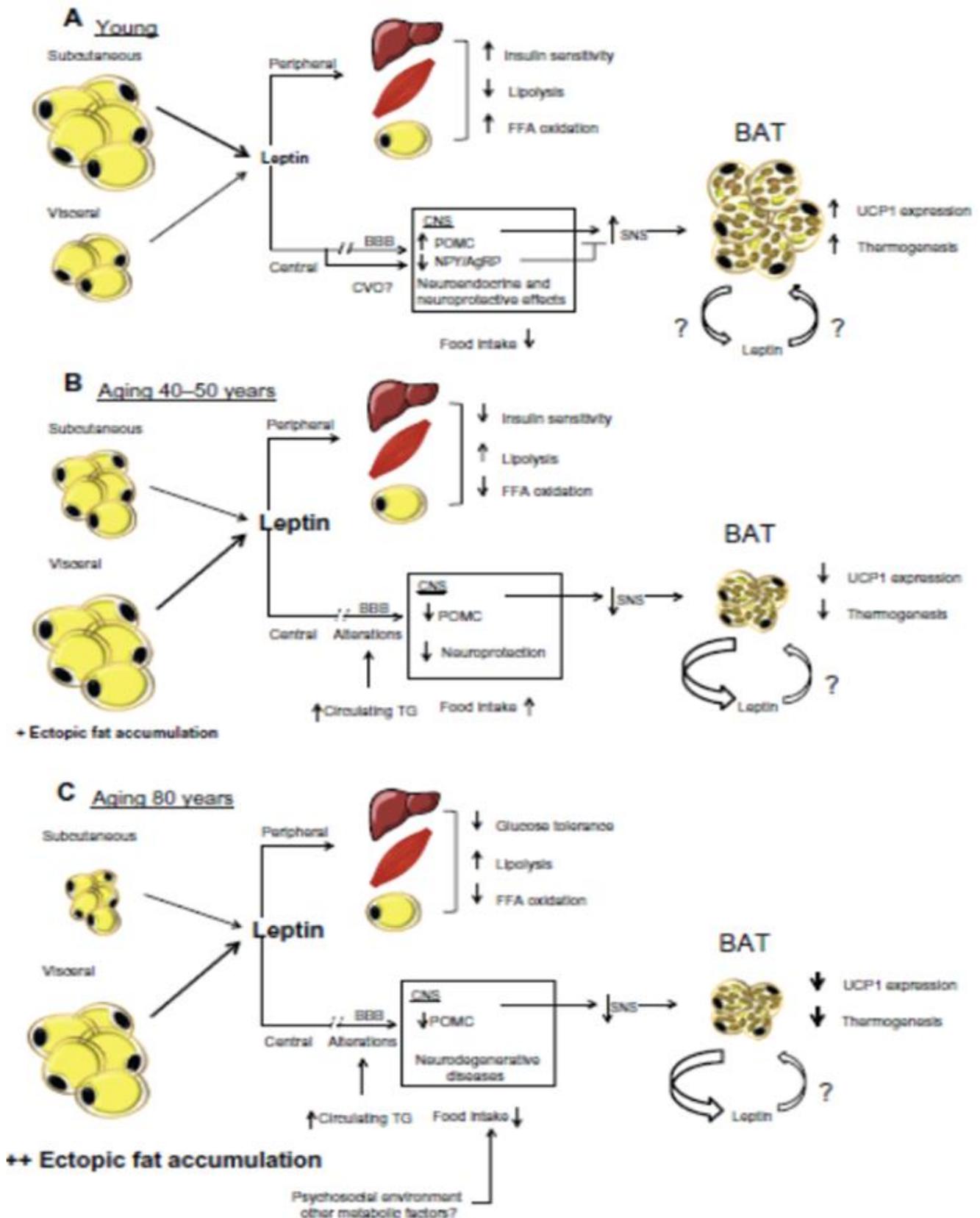


Figure 18: Représentation des différentes modifications relatives à la redistribution de la graisse corporelle, le poids corporel, la résistance à la leptine, et les taux circulants de leptine, l'adiponectine et de l'insuline chez les jeunes, le moyen âge et pendant le vieillissement en bonne et mauvaise santé. ...**(A)** Effets de la production de leptine par les graisses viscérales et sous-cutanée chez les jeunes **(B)** chez les adultes **(C)** pendant le vieillissement (Carter, 2013)

Au cours du vieillissement, les différentes localisations du tissu adipeux subissent des transformations à des vitesses différentes (Kirkland, 2002). La masse adipeuse au niveau périphérique et sous-cutané diminue avec le vieillissement mais celle du tissu adipeux viscéral n'est pas affectée (Hughes, 2004). Puisque le tissu adipeux sous-cutané est la principale source de la leptine, sa diminution réduit la production de la leptine et ses effets (Van Harmelen, 1998), ce qui augmente le taux d'acides gras libres due à la baisse de la β -oxydation leptino-dépendante. L'augmentation des taux circulants d'acides gras libres favorise la redistribution des graisses viscérales (Eckel, 2005). L'âge est associé à une baisse de la taille des dépôts de graisse qui semble être le résultat d'une diminution de la taille des cellules, par opposition à une baisse du nombre de cellules (Cartwright, 2007). Cependant, d'autres études ont montré une corrélation négative entre l'âge et la prolifération des pré-adipocytes sous-cutanés, expliquant la perte sélective de tissu adipeux sous-cutané avec le vieillissement (Van Harmelen, 2004). L'adipogénèse est susceptible de se maintenir, tout au long de la vie, puisque le nombre d'adipocytes reste constant ou augmente même chez les sujets âgés (Kirkland, 2002; Arner, 2011). Toutefois, au cours du vieillissement, les préadipocytes perdent partiellement leur capacité de différenciation et de prolifération (Karagiannides, 2006). Les pré-adipocytes ont la capacité de se différencier, de stocker les triglycérides, de répondre à l'insuline et de sécréter les adipokines (Kirkland, 2002). Dans le tissu adipeux le dépôt lipidique est régulé par la différenciation des pré-adipocytes et l'apoptose (Spalding, 2008). Tandis que, la différenciation des pré-adipocytes isolés de rats et d'humains âgés montre une diminution de l'accumulation des lipides et de la taille des pré-adipocytes en comparaison aux pré-adipocytes isolés des individus plus jeunes (Djian, 1983; Kirkland, 1990). La diminution de la capacité d'accumulation des lipides peut être un facteur important de la réduction de la taille des adipocytes, étant donné que le contrôle de la lipolyse est altéré dans les cellules adipeuses lors du vieillissement (Gregerman, 1994; Kirkland, 1984) Ainsi, ces facteurs intrinsèques, liés à l'âge, peuvent affecter la masse grasse en influençant les préadipocytes et les adipocytes.

Les changements dans la répartition des graisses, associées au vieillissement, conduisent également à une modification du profil de sécrétion des adipokines. Les taux circulants des cytokines inflammatoires tels que le TNF α , la protéine C-réactive (CRP), et l'IL-6, sont élevés chez les sujets âgés et obèses (Fried, 1998). Le taux plasmatique de leptine est élevé au cours du vieillissement chez les rongeurs (Ahren, 1997; Li, 1997) ainsi que chez les humains (Wang, 1999; Sanchez-Rodriguez, 2000), ce qui suggère que le vieillissement est lié à un état de résistance à leptine. Bien que le vieillissement soit caractérisé par une diminution de l'appétit (Engineer, 2012), il a été suggéré que l'hyperleptinémie observée chez les personnes âgées pourrait servir à contrebalancer la diminution de la sensibilité hypothalamique à la leptine (Scarpace, 2000).

Il a été aussi montré que la résistance à la leptine, au cours du vieillissement était indépendante de la masse grasse chez le rat (Gabriely, 2002). La leptine joue également un rôle important dans l'inflammation du tissu adipeux (Mack, 2009). Les dysfonctionnements métaboliques du tissu adipeux, liés à l'âge, peuvent être expliqués par la lipotoxicité et/ou par l'augmentation des facteurs pro-inflammatoires.

III-8/ Résistance à la leptine et maladies neurodégénératives liées au vieillissement:

La leptine régule l'excitabilité des neurones de l'hippocampe, ainsi que la plasticité synaptique, ce qui suggérerait son implication dans les processus de mémoire et cognition. Par ailleurs, les récepteurs de la leptine ont été identifiés dans les neurones de l'hippocampe vulnérables à la maladie d'Alzheimer (MA) (Folch, 2012). La MA est une maladie neurodégénérative progressive associée à une variété de symptômes, tels qu'une altération progressive de la fonction cognitive et des troubles d'orientation et d'attention (Naderali, 2009). De plus, elle est définie par l'association d'un syndrome démentiel et, à l'examen histologique du cerveau, par l'existence de plaques amyloïdes et de dégénérescences neurofibrillaires (agrégats de protéines Tau hyper phosphorylées) (Moreira, 2013). Plusieurs études cliniques ont montré une corrélation négative entre l'obésité et la fonction cognitive et une corrélation positive entre l'hyperleptinémie et le risque de maladie MA (Tezapsidis, 2009; Naderali, 2009). De plus, les taux de leptine élevés sont associés à la diminution du risque de démence, à la MA et à une baisse de déclin cognitif (Holden, 2009; Lieb, 2009). Des souris avec une mutation ciblée du récepteur ObRb montrent une diminution de la plasticité synaptique associée à une diminution de la performance de mémoire spatiale (Li, 2002) renforçant ainsi l'idée que la leptine joue un rôle neuroprotecteur. Puisque l'obésité altère les fonctions cognitives et que la leptine protège contre la neurodégénérescence, cela suggérerait que la résistance à la leptine augmente la prévalence de MA chez les sujets âgés obèses (Singh-Manoux, 2012). Ces données ont été confirmées par une grande étude prospective réalisée sur des personnes âgées et qui a montré une corrélation négative entre les taux circulants de leptine et l'apparition de troubles de la cognition (Holden, 2009). L'altération des taux circulants de leptine serait impliquée dans d'autres pathologie neurologiques telles que : la maladie de Parkinson, l'épilepsie et l'ischémie cérébrale (Folch, 2012). Toutes ces données suggèrent un rôle neuroprotecteur de la leptine qui réduirait le déclin cognitif observé chez certains sujets âgés (Naderali, 2009).

III-9/ Résistance à l'insuline et maladies neurodégénératives liées au vieillissement:

Un dysfonctionnement de la signalisation de l'insuline au niveau central pourrait être associé aux caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (MA). Au niveau central, l'hyperinsulinémie favorise l'association de l'insuline avec l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE) au détriment de la protéine bêta-Amyloïde (bA) en augmentant l'accumulation de cette dernière et formant ainsi les plaques amyloïdes. De plus, l'altération de l'activation de la voie Akt/PI3K pourrait augmenter l'hyperphosphorylation des protéines Tau et la formation d'agrégats neurofibrillaires (Moreira, 2013). Par ailleurs, chez les personnes âgées, la résistance à l'insuline liée à la MA provoquerait une hyperphosphorylation de la protéine tau qui s'accumulerait dans le corps cellulaire du neurone et conduirait à sa mort. Toutefois, l'induction expérimentale, chez l'animal, de la résistance centrale à l'insuline provoque une dégénération neuronale et cognitive semblable à la MA (Lester-Coll, 2006). De plus, l'inhibition du récepteur à l'insuline au niveau central, montre une augmentation de la détérioration cognitive chez l'animal (Taghizadeh, 2011). Toutefois, la résistance à l'insuline, chez les personnes âgées, s'accompagne souvent des pathologies suivantes: maladie de Parkinson, (Peppard, 1992) la maladie de Huntington (Kuwert, 1990), la sclérose en plaques (Guo, 2000), l'épilepsie résistante aux médicaments, DT2.

III-10/ Modification du métabolisme protéique au cours du vieillissement:

La synthèse protéique et la protéolyse sont en équilibre assurant ainsi l'homéostasie protéique (Nair, 1995). Une synthèse protéique supérieure à la protéolyse entraîne un gain protéique net. Cependant, une protéolyse supérieure à la synthèse est associée à une diminution de la masse protéique. Ainsi, la synthèse protéique se fait à partir d'un groupe d'acides aminés (AAs) libres, issus essentiellement de la voie de la protéolyse (75% des AAs utilisés pour la synthèse protéique sont issus de la protéolyse, les 25% restant, étant apportés par l'alimentation) (Beaufrère, 2002). D'autres voies interviennent dans le métabolisme protéique, tels que la dégradation irréversible des AAs (oxydation des AAs avec une élimination de CO₂ et d'azote via le cycle de l'urée) et les apports protéiques alimentaires qui permettent de compenser les pertes d'AAs (**figure 19**).

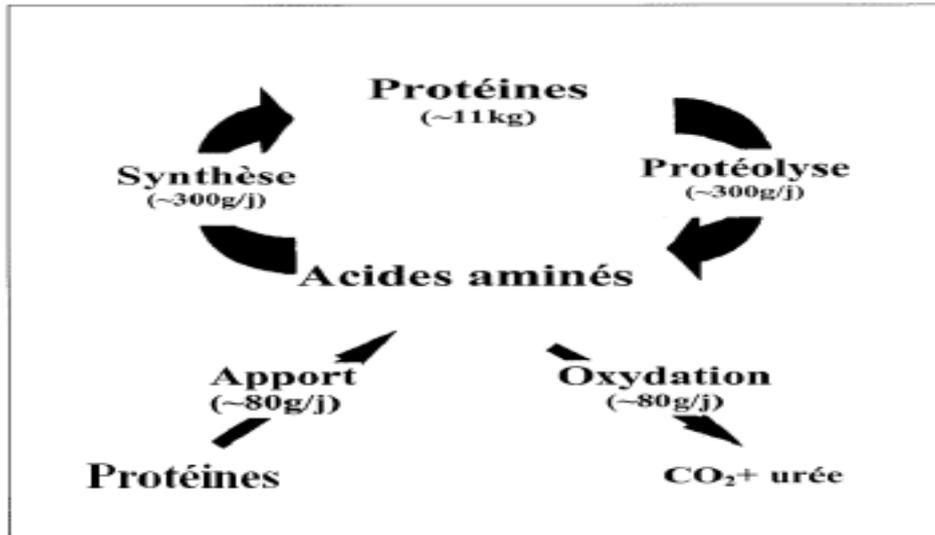


Figure 19: Représentation schématique du métabolisme protéique chez l'Homme adulte sain.

(Beaufrère, 2002).

La balance entre synthèse et dégradation protéique, chez la personne âgée, est déséquilibrée en faveur de la protéolyse, ce qui entraîne donc une perte régulière de protéines notamment musculaires. La principale différence, entre sujets âgés et jeunes adultes, résiderait surtout au niveau de la stimulation postprandiale de la synthèse protéique qui est plus faible chez le sujet âgé (Nair, 1995; Volpi, 1998). Cette résistance à la stimulation postprandiale de la synthèse protéique pourrait expliquer, en partie, la perte des protéines musculaires au cours du vieillissement.

L'effet stimulant du repas sur la synthèse protéique musculaire est diminué chez le sujet âgé (Nair, 1995; Volpi, 1998). Les premières études concernant les effets du vieillissement sur la dégradation protéique ont tout d'abord montré une diminution de la vitesse de dégradation protéique du corps entier en période post-absorptive (Balagopal, 1997b). Des défauts de régulation de certaines voies protéolytiques (voies ubiquitine-protéasome-dépendante et lysosomale) ont été rapportés chez le sujet âgé (Martinez-Vicente, 2005; Vernace, 2007). Des études récentes montrent que l'effet inhibiteur du repas sur les voies de la protéolyse musculaire est réduit chez les rats âgés. Ainsi, différentes études expérimentales montrent que les rats âgés répondraient mal aux signaux anti-cataboliques de l'insuline et des AAs (Capel, 2009; Combaret, 2009).

Des phénomènes d'oxydation et de carbonylation des protéines augmentent avec l'âge contribuant ainsi à la perte de la masse protéique (Ugarte, 2009; Combaret, 2009, Mosoni, 2004).

Au niveau musculaire, malgré une protéolyse musculaire augmentée en période postprandiale chez le sujet âgé et des réactions d'oxydation et de carbonylation des protéines accrues, c'est essentiellement la diminution de la synthèse protéique qui explique la perte de la musculaire survenant au cours du

vieillesse (Balagopal, 1997b). Ces différences de réponse, chez la personne âgée, pourraient être expliquées par des modifications des voies de transduction de la synthèse protéique et, en particulier, de la voie mTOR (**Figure 20**).

III-10. A/ La voie de transduction mTOR:

La protéine mTOR (mammalian Target of Rapamycin) est une sérine-thréonine kinase de 290 kDa. Elle est l'élément central de la voie de synthèse des protéines, notamment au niveau de l'étape de traduction. La régulation de la synthèse protéique dépend de la constitution d'un complexe composé de facteurs protéiques d'initiation de la traduction (eukaryotic initiation factors, eIFs) (Anthony, 2000). Ce complexe permet le positionnement du ribosome sur les ARN messagers. La formation de ce complexe est sous le contrôle d'interactions enzymatiques, faisant intervenir mTOR, qui induit la stimulation de la synthèse protéique par deux mécanismes (**figure 21**). Le complexe protéique mTOR activé induit la phosphorylation de p70S6 kinase qui phosphoryle à son tour la protéine S6 ribosomale initiant ainsi la traduction protéique (Cuthbertson, 2005; Dreyer, 2005). mTOR active aussi la phosphorylation de la protéine 4E-BP1 qui libère eIF4E activant ainsi l'initiation de la traduction (Fujita, 2006). Le complexe protéique mTOR est activé par différents signaux dont la stimulation électrique musculaire (Parkington, 2003), l'insuline et les AAs (telle que la Leucine) (Beugnet, 2003; Kimball, 2006; Fujita, 2007 ; Proud, 2004; Kimball, 2006) et la Citrulline (Moinard, 2007b). Chez la personne âgée, l'activation de mTOR est diminuée en réponse à ces facteurs (Dardevet, 2000; Funai, 2006; Fujita, 2009, Liu, 2009).

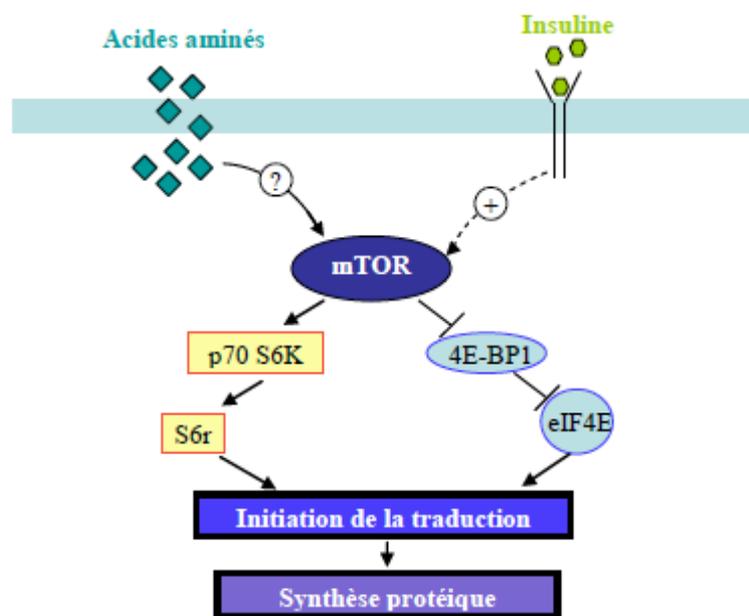


Figure 20: La voie de transduction mTOR correspond à plusieurs étapes, essentiellement d'auto-phosphorylation de protéines.

III-11/ Vieillessement et variations de la synthèse protéique musculaire:

Au cours du vieillissement, le renouvellement protéique total, exprimé par kg de poids corporel, diminue chez l'Homme (Welle, 1993; Boirie, 1997; Morais, 1997; Millward, 1997). Toutefois, la différence observée entre sujets jeunes et âgés s'estompe voire disparaît si l'on ajuste les mesures de protéosynthèse aux changements de masse maigre (Boirie, 1997; Morais, 1997; Arnal, 2000b).

Au niveau musculaire, on retrouve chez le sujet âgé une diminution de la synthèse protéique musculaire (Balagopal, 1997b). En effet, le taux de synthèse basale de l'ensemble des protéines du muscle vastus lateralis est inférieur de 39 % chez des sujets âgés de plus de 60 ans par rapport à celui des adultes de moins de 24 ans (Yarasheski, 1993). Cette diminution de synthèse des protéines musculaires n'affecte pas toutes les protéines de façon équivalente: les protéines sarcoplasmiques sont relativement préservées (Balagopal, 1997) alors que les protéines myofibrillaires (Welle, 1993; Nair 1995) et mitochondriales (Rooyackers, 1996) sont les plus affectées. La synthèse des protéines myofibrillaires est ainsi diminuée de 44% chez des sujets âgés comparés à des sujets jeunes (Welle, 1993). Cette altération porte essentiellement sur la synthèse des chaînes lourdes de myosine (Balagopal, 1997b; Toth, 2006). La diminution du renouvellement des protéines contractiles a des conséquences fonctionnelles et pourrait expliquer, en partie, les pertes de masse et de force musculaires observées au cours du vieillissement (Toth, 2006).

Au cours du vieillissement, la stimulation de la synthèse protéique musculaire est fortement réduite en réponse à des signaux anaboliques (Mosoni, 1995; Dardevet, 2003; Guillet, 2004a ; Cuthbertson, 2005; Fujita, 2009). Ceci s'explique par une perte de sensibilité du muscle à l'effet de l'insuline et/ou des acides aminés. Cette perte de sensibilité est corrélée avec une diminution de la phosphorylation de S6K1 (Dardevet, 2000 ; Guillet, 2004a). L'origine de ces perturbations pourrait s'expliquer par la présence d'un stress oxydatif ou d'une inflammation perturbant les voies de la synthèse protéique (Visser, 2002 ; Schaap, 2006 ; Marzani, 2008; Rieu, 2009 ; Balage, 2009). D'autres études ont mis en évidence une association entre des marqueurs pro-inflammatoires liés au vieillissement et une diminution de la synthèse protéique chez l'homme (Toth, 2005) ou une diminution de la stimulation postprandiale de la synthèse protéique chez le rat (Balage, 2009).

L'effet de l'insuline, sur la synthèse protéique, reste encore controversé. En effet, différentes études réalisées in vitro, montrent une action stimulante de l'insuline sur l'incorporation des AAs au sein d'un muscle isolé (Biolo, 1993; Boirie, 2005). Le principal effet de l'insuline sur la synthèse protéique résulte de son action inhibitrice sur la protéolyse (Fukagawa, 1985; Gelfand, 1987; Biolo, 1993). Chez les personnes âgées, cet effet est maintenu dans une certaine mesure (Boirie, 2001). Chez le rat âgé et au niveau musculaire, les effets anaboliques de l'insuline ou des acides aminés circulant sont

altérés (Dardevet, 1994). Chez l'Homme âgé sain, la réponse anabolique du muscle à une augmentation postprandiale des taux circulants de l'insuline et des acides aminés est altérée (Volpi, 2000; Guillet, 2004a). Enfin, une augmentation de l'insulinémie permettrait de stimuler l'anabolisme protéique du muscle squelettique chez les personnes âgées (Fujita, 2009).

III. A/ Conséquences de modifications du métabolisme protéique et relation avec la fonction musculaire:

Chez le sujet âgé, l'altération du métabolisme protéique a pour conséquence la diminution progressive de la masse musculaire appelée : sarcopénie. Cette dernière est aggravée par d'autres facteurs tels que :

- En cas de perte de poids chez les sujets âgés, une diminution préférentielle de la masse musculaire est observée (Chambon-Savanovitch, 1999; Felgines, 1999; Hébuterne, 2001; Schneider, 2002)
- La dénutrition fréquente chez le sujet âgé participe à l'aggravation de la sarcopénie.
- Enfin, les personnes âgées présentent une résistance à la renutrition par rapport aux adultes jeunes (Shizgal, 1992; Hébuterne, 1997; Mosoni, 1999; Walrand, 2000), ce qui fait que toute perte de masse maigre est quasi-définitive.

Les altérations du métabolisme des protéines participent ainsi à l'ensemble des processus physiologiques et pathologiques contribuant à la diminution de la masse musculaire.

La réduction de la masse musculaire s'accompagne, le plus souvent, d'une diminution de la force musculaire appelée dynapénie (Fujita, 2006; Clark, 2008; Muscaritoli, 2010). L'altération de la fonction musculaire qui en résulte contribue à la perte d'autonomie des personnes âgées (troubles de la marche, restriction d'activité...) et à une baisse des performances physiques (Cruz-Jentoft, 2010). Cette perte de muscle s'accompagne également d'une infiltration intramusculaire de tissu adipeux et d'un remodelage du tissu conjonctif musculaire (Jubrias, 1997).

Différentes études estiment que 25% des personnes de plus de 70 ans et 40% des plus de 80 ans seraient sarcopéniques (Baumgartner, 1998 ; Iannuzzi-Sucich, 2002). Toutefois, la sarcopénie résulte d'interactions complexes entre de multiples facteurs (**figure 21**) (Greenlund, 2003; Giner, 1996; Muscaritoli, 2010) tels que:

- la diminution des apports protéiques et énergétiques.
- la diminution de l'activité physique
 - la diminution de la sécrétion de nombreuses hormones anabolisantes (insuline, l'IGF-I, testostérone) et l'augmentation concomitante de celle des hormones du catabolisme (glucocorticoïdes).

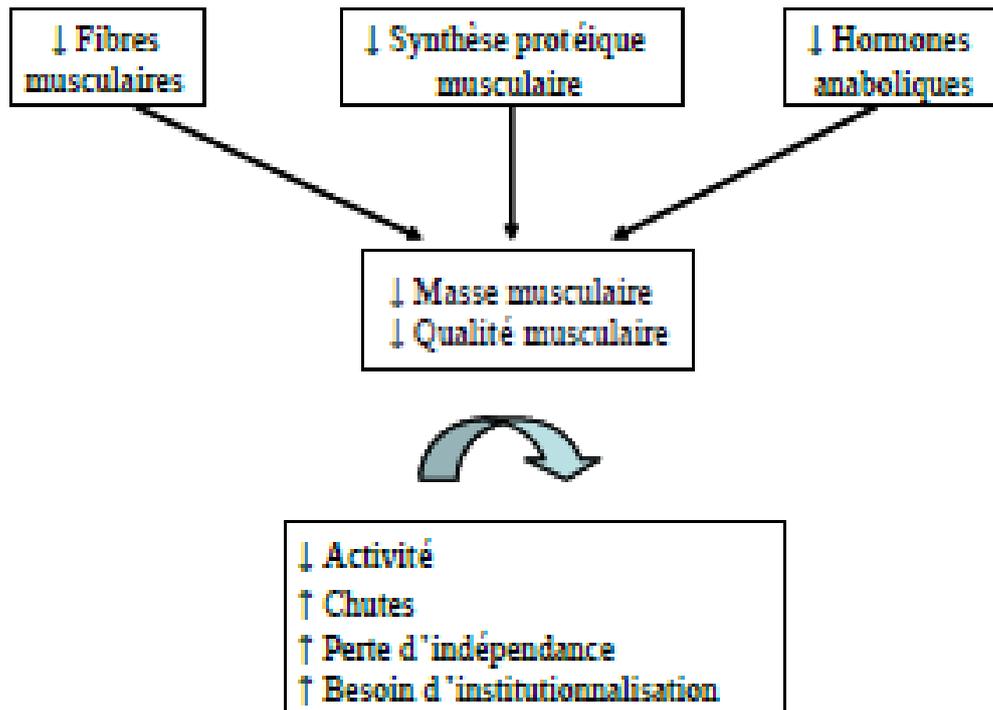


Figure 21: Causes et conséquences de la sarcopénie (Greenlund, 2003).

À ce titre, la sarcopénie est reconnue comme un facteur central dans la physiopathologie du syndrome de fragilité chez la personne âgée (Morley, 2006). Ce syndrome, dont la prévalence est élevée chez les sujets âgés, est hautement prédictif d'évènements négatifs comme l'hospitalisation, la dépendance, l'institutionnalisation (corrèle à une augmentation de la mortalité et de la morbidité) (Fried, 2001).

VI/ La dénutrition du sujet âgé:

La dénutrition est un phénomène observé dans la population âgée. Elle est le résultat d'un déséquilibre entre les apports et les besoins de l'organisme (ANAES, 2003). Elle se caractérise par une perte de poids (Dey DK, 2001) et une diminution importante des apports alimentaires (jusqu'à 30% entre 20 et 80 ans (Wurtman JJ, 1988)). La malnutrition, quant à elle, constitue la conséquence d'une alimentation mal équilibrée ou d'un désordre métabolique. Elle résulte d'apports insuffisants d'éléments nutritifs essentiels, même si les apports énergétiques sont adéquats.

La dénutrition constitue un facteur de risque majeur pour de nombreuses pathologies du sujet âgé et demeure un élément prédictif de la perte d'autonomie et de la mortalité (Covinsky, 1999).

L'évaluation et la prise en charge de la dénutrition du sujet âgé a fait l'objet d'un consensus spécifique à cette catégorie de population par la Haute Autorité de Santé en 2007 (HAS, 2007).

Quatre éléments principaux interviennent dans le diagnostic de la dénutrition:

- Une perte de poids (supérieure à 5% en 1 mois ou 10% en 6 mois),
- Un indice de masse corporelle < 21 kg/m²,
- Une albuminémie < 35 g/L
- Une évaluation par un questionnaire tel que le Mini Nutritional Assessment (MNA).

Le tableau ci-dessous résume les déterminants de la prise alimentaire et l'état nutritionnel des personnes âgées (**Tableau 2**). Tous ces changements physiologiques, psychologiques et sociaux affectent leurs prise alimentaire et mènent à la dénutrition, la diminution des besoins énergétiques et à des changements en apports en énergie, macronutriments et micronutriments.

Physiologiques	Médicaux	Psychologiques	Sociaux
↓ fonctions sensorielles (goût, odorat, vision) ↑ satiété précoce ↓ sante bucco-dentaire ↑ dysphagie ↓ sécrétion salivaire ↑ gastrite atrophique Perturbation de la régulation des apports alimentaires	↑ inflammation chronique ↑ infection chronique ↑ interactions médicamenteuses ↑ régime thérapeutique restrictif ↑ incapacités fonctionnelles (achat, préparation, consommation des aliments) ↑ maladie chronique invalidante	↑ dépression > croyances et attitudes rigides ou erronées ↑ événements stressants ↑ troubles cognitifs	↓ accès à l'épicerie, aux services alimentaires > faible niveau d'instruction > revenus limités > isolement social, et solitude

Tableau 2: Déterminants de la prise alimentaire et de l'état nutritionnel des personnes âgées. Adapté de Payette & Ferry (Payette, 2007). ↑ - augmentation, ↓ - diminution, > - plus

V/ Besoins nutritionnels de la personne âgée:

Les besoins nutritionnels correspondent aux quantités de nutriments devant être ingérées, par un individu, pour assurer l'entretien et le bon fonctionnement de son organisme. Les connaissances sur le lien entre la nutrition et le vieillissement plaide en faveur d'une relation bidirectionnelle dans laquelle le processus de vieillissement peut avoir une influence profonde sur la nutrition allant de la prise alimentaire à l'utilisation des besoins en éléments nutritifs, alors qu'une meilleure nutrition peut affecter la biologie et la trajectoire du vieillissement (Rosenberg, 2012). Les changements physiologiques survenant lors du vieillissement, détaillés dans la section précédente, entraînent des modifications des besoins nutritionnels des personnes âgées. Ces modifications sont associées aux changements observés en regard de la composition corporelle, de l'activité physique, du métabolisme et des fonctions digestives, notamment l'absorption intestinale (Payette, 2007). De plus, d'autres facteurs physiologiques connus pour être associés à la sensation de faim ou de satiété et liés à des changements dans les hormones périphériques, des fonctions sensorielles et de certains

neurotransmetteurs et neuropeptides impliqués dans le contrôle central du comportement alimentaire mènent aussi à une réduction de l'apport alimentaire (de Boer, 2012). Les besoins nutritionnels sont évalués en fonction de divers paramètres comme le sexe, l'âge, le poids, la taille et le mode de vie.

V-1/ Besoins énergétiques:

Les besoins énergétiques d'un adulte, se basent sur la Dépense Énergétique de Repos (DER). Elle est déterminé par la dépense énergétique de l'individu, qui est divisée en trois volets: (1) le taux métabolique au repos (Resting Metabolic Rate), (2) l'effet thermique des aliments (Thermic Effect of Food) et (3) la dépense énergétique provenant de l'activité physique. Le taux métabolique au repos représente le taux d'énergie utilisé au repos pour soutenir les fonctions essentielles à la vie. Cette DER serait d'environ 1570kcal pour un homme qui a entre 60 et 75 ans et d'environ 1250 kcal pour une femme du même âge. Elle serait augmentée dans les cas d'hypercatabolisme (Trivalle, 2008).

Le métabolisme basal d'un individu est fortement lié à la masse maigre. La masse maigre diminue lors du vieillissement et, les besoins énergétiques diminuent avec l'âge. Suite aux changements physiologiques, le vieillissement est associé à une incapacité à maintenir l'homéostasie énergétique (de Boer, 2012). Ainsi, le défi qui se présente est de pouvoir répondre à tous les besoins en éléments nutritifs avec un apport énergétique diminué d'où la nécessité d'augmenter la densité énergétique des régimes (Payette, 2007; Chernoff, 2006). Toutefois, des données récentes montrent que les besoins énergétiques pourraient être plus élevés que ceux suggérés dans les recommandations actuelles compte tenu de la perturbation de la régulation des apports alimentaires observés avec le vieillissement et de l'inflammation chronique. En pratique, au-delà de 65 ans, on conseillera un apport énergétique journalier d'au moins 2000 kcal pour un homme et 1800 kcal pour une femme. Au-delà de 80 ans, 30 kcal/kg/j restent nécessaires afin d'éviter les carences nutritionnelles.

V-2/ Besoins en macronutriments:

Bien qu'il y ait une diminution des besoins énergétiques avec l'âge, les besoins en macro- et micronutriments ne diminuent pas. Au contraire, plusieurs études indiquent que les besoins en protéines par kilogramme de poids corporel doivent être augmentés (Chernoff, 2005).

V-2. 1/ Les glucides:

Les glucides sont des biomolécules d'hydrates de carbone composés essentiellement d'atomes de carbone, d'oxygène et d'hydrogène dont le rôle principal est de permettre à l'organisme de former le glucose qui est une source majeure d'énergie. Dans l'alimentation, on distingue deux grandes catégories de glucides: les glucides digestibles et les glucides non digestibles (Jacotot, 2003).

Dans les glucides digestibles, on retrouve notamment les sucres simples tels que les monosaccharides (fructose et glucose) et les disaccharides (lactose et saccharose), ils sont les constituants principaux des fruits et des sucreries (**Figure 22**).



Figure 22: Structure du glucose, fructose.

On retrouve aussi, dans cette catégorie les amidons qui sont des polysaccharides constitués d'un enchaînement de nombreuses unités monosaccharidiques, unies par des liaisons O-glycosidiques (**Figure 23**). (Moussard, 2006) On les retrouve les féculents.

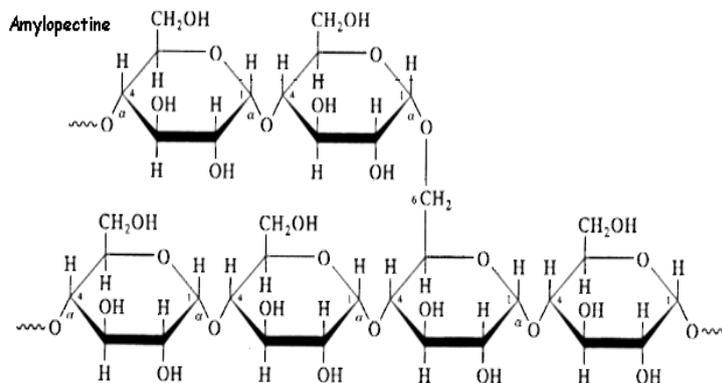


Figure 23: Structure de l'amylopectine, constituant de l'amidon.

La deuxième catégorie de glucides est celle non digestible notamment les polysaccharides retrouvés principalement dans les fibres alimentaires. Ces dernières sont recommandées pour lutter contre la constipation très fréquente chez la personne âgée à cause du ralentissement du péristaltisme et de la diminution de l'apport hydrique. Il est recommandé d'en consommer 25 à 30g/jour. Les glucides doivent représenter 50 à 55% de l'apport énergétique total (AET) dont 10% de sucres simples. Il faut savoir que l'équivalent d'un gramme de glucides correspond à 4 kcal.

V-2. 2/ Les protéines:

Il existe vingt AA différents impliqués dans le métabolisme humain dont huit essentiels (isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine).

Les protéines ont, comme tous les autres macronutriments, un rôle énergétique. Cependant, il est à noter que contrairement aux lipides et aux glucides, il n'y a pas de réserve protéique dans l'organisme mais l'oxydation d'un gramme de protéine fournit 4 kcal.

De plus, les protéines peuvent avoir des rôles dans la régulation de nombreux processus biologiques (enzymes, hormones) ou des rôles structurels en constituant le cytosquelette (actine et myosine) (Chevallier, 2009). Dans l'alimentation, les protéines représentent 10 à 12% de l'AET (1g/kg/j pour le jeune adulte et 1,2g/kg/j pour les personnes âgées).

V-2-2. A/Impact de l'âge sur la régulation du métabolisme protéique musculaire après le repas

Le métabolisme protéique est modifié par la prise alimentaire. En effet, les protéines corporelles sont déposées durant la phase postprandiale puis « perdues » au cours de la période post-absorptive. La masse musculaire varie au cours de la journée. Cependant, pour maintenir la masse maigre constante au cours du temps, les pertes de protéines musculaires doivent être compensées par un gain identique de protéines durant la phase post-prandiale (**Figure 24**).

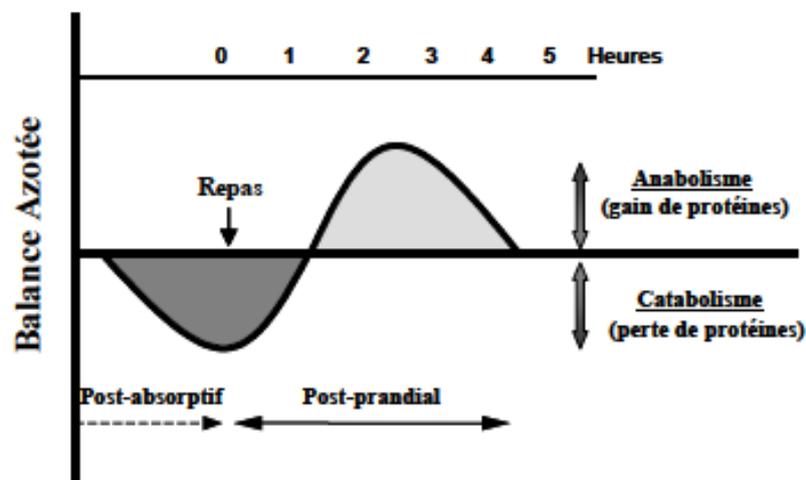


Figure 24: Modification de la balance azotée entre les phases post-absorptives et postprandiales.

Chez l'Homme adulte, la prise alimentaire est associée à une augmentation de la synthèse des protéines corporelles et à une diminution de leur dégradation (Boirie, 1997; Arnal, 2000 a, b). Ces modifications sont induites par une augmentation des concentrations à la fois d'hormones (insuline et glucagon) (Copeland, 1990; Vermeulen, 1999) et de nutriments. Plusieurs études montrent que ce sont les acides aminés qui jouent le rôle le plus important dans le dépôt des protéines corporelles pendant la phase postprandiale. Toutefois, les acides aminés alimentaires ont également une action propre sur la sécrétion hormonale. Des perfusions d'AA chez l'animal ont mis en évidence que ces derniers activent la sécrétion d'insuline et de glucagon (Ohneda, 1968a; 1968b; Rocha, 1972). Dans des conditions physiologiques, l'ingestion d'un repas à base de protéines active la sécrétion de glucagon chez l'homme sain (Gaudichon, 1999; Brand-Miller, 2000; Calbet, 2002). Par ailleurs, les protéines du lactosérum sont riches en leucine, isoleucine, valine, et lysine (**tableau 3**), acides aminés

qui ont un effet insulino-sécréteur, que ce soit chez le sujet en bonne santé ou diabétique (van Loon, 2003; Nilsson, 2004; Frid, 2005; Nilsson, 2007). Enfin, l'apport d'AA ou protéines a un effet anabolisant à court terme, essentiellement par stimulation de la synthèse protéique (Garlick, 1991; Pacy, 1994).

Avec l'âge, il y a des modifications de la réponse du métabolisme protéique pendant la période de transition de l'état post-absorptif à l'état postprandial. La prise alimentaire inhibe moins la dégradation des protéines corporelles chez la personne âgée et ceci quel que soit le sexe (Boirie, 1996 ; Arnal, 2000a). Il a été montré que la synthèse des protéines musculaires n'est plus stimulée par le repas chez le rat âgé (Dardevet, 2011). Cette perte de l'effet anabolique du repas pourrait en partie expliquer le déclin de la masse musculaire au cours de l'âge puisqu'une partie des protéines musculaires perdue au cours de la phase post-absorptive ne serait pas complètement compensée durant la prise alimentaire chez la personne âgée (Dardevet, 2011). Comme les acides aminés jouent un rôle important dans la régulation de la protéosynthèse, il a été supposé que la biodisponibilité en acides aminés au cours du repas était diminuée avec l'âge. Chez l'Homme âgé, l'extraction des acides aminés par les organes de l'aire splanchnique (foie et tube digestif) est exacerbée, ceci pourrait limiter la distribution des acides aminés vers le tissu musculaire (Boirie, 1997).

V-2-2. B/ Sensibilité du muscle aux acides aminés au cours du vieillissement:

On retrouve chez l'Homme, une diminution de la synthèse protéique spécifiquement musculaire avec l'âge (Balagopal, 1997b). En effet, le taux de synthèse basale de l'ensemble des protéines du vastus lateralis est inférieur de 39 % chez des sujets âgés de plus de 60 ans, par rapport à celui des adultes de moins de 24 ans (Yarasheski, 1993). Par ailleurs, la perte de l'effet repas avec l'âge pourrait être la conséquence d'une diminution de sensibilité du muscle squelettique aux acides aminés. Au cours du vieillissement, il se développe une résistance du métabolisme protéique musculaire (protéosynthèse et protéolyse) aux acides aminés et en particulier à la leucine qui joue un rôle important dans la stimulation de la synthèse des protéines musculaires chez les personnes âgées (Dardevet, 2000; Fujita, 2006; Rieu, 2006). En effet cet acide aminé, en plus d'être un substrat, est également un « *acide aminé signal* » puisqu'il stimule spécifiquement des facteurs et kinases intracellulaires impliqués dans des voies de signalisation contrôlant la traduction des protéines (Dardevet, 2000; Fujita, 2006). Par ailleurs, cette altération permet d'expliquer en partie la perte de l'effet repas au cours de l'âge et son implication sur le développement de la sarcopénie. Cependant, Il a été démontré in vitro et in vivo que l'addition de la leucine stimule la synthèse protéique principalement au niveau musculaire (Anthony, 2000; Dardevet, 2000; Escobar, 2006; Vary, 2007). Des stratégies nutritionnelles mises en œuvre pour lutter contre la dénutrition des personnes âgées et pour limiter et ralentir la sarcopénie.

D'abord par maintenir l'apport protéique chez la personne âgée et modifier leur répartition au cours de la journée, puis optimiser la matrice alimentaire dans laquelle les protéines sont ingérées (les protéines laitières peuvent être données facilement sous forme de matrice liquide), et en fin favoriser l'ingestion des protéines à digestion rapide (les protéines solubles du lait) (**tableau 3**) de plus, augmenter l'apport en certains acides aminés comme la leucine (les protéines laitières comme la β lactoglobuline et les protéines du lactosérum qui sont naturellement plus riches en leucine que les autres protéines alimentaires).

V-2-2. C/ Impact des Protéines à digestion rapide et la Leucine sur le vieillissement:

La vitesse d'absorption des acides aminés alimentaires et leur effet sur la régulation du métabolisme protéique, dépendent de la forme moléculaire de la protéine ingérée. Ainsi, cette absorption est plus faible avec des protéines natives qu'avec des protéines fortement hydrolysées (riches en petits peptides). Cependant, il existe des différences notables en termes de vitesse de digestion entre les protéines alimentaires natives telles que les protéines laitières (la caséine et protéines du lactosérum) (**Tableau 3**). Après ingestion de protéines du lactosérum, les acides aminés alimentaires apparaissent rapidement en forte concentration dans le plasma alors qu'avec la caséine, la concentration reste modérée et augmente au-dessus des valeurs post absorptives pendant plus de 6 h. Ceci est expliqué par la vitesse de digestion des deux types de protéines qui est soit rapide (lactosérum) soit lente (caséine) dont la composition en AAs est représentée dans **le tableau 3** (Boirie, 1997). La différence de digestion est associée au comportement physicochimique de ces deux types de protéines dans le tractus digestif. En effet, les protéines du lactosérum restent solubles dans l'estomac et sont rapidement vidangées, alors que la caséine sous l'effet de l'acidité gastrique coagule fortement. Ces différences de digestion influencent différemment les taux circulants d'acides aminés en période post-prandiale ce qui modifierait le métabolisme protéique particulièrement chez le sujet âgé. Ainsi, ces deux protéines ont été testées pour pallier la perte de sensibilité du muscle squelettique aux acides aminés au cours du vieillissement. Chez les personnes âgées, les protéines du lactosérum stimulent la synthèse protéique après le repas alors que la caséine reste quasiment sans effet (Boirie, 1997). En revanche, quand les deux protéines sont ingérées en même temps que des sources énergétiques (glucides et lipides), le rendement d'utilisation de l'azote était équivalent chez l'adulte quelle que soit la source protéique, alors que chez le sujet âgé les protéines du lactosérum permettaient un meilleur rendement de la fixation d'azote (de protéines) qui traduit une meilleure synthèse protéique (Dangin, 2003). Chez le rat âgé, les protéines du lactosérum sont plus efficaces que la caséine pour restaurer l'effet du repas sur la synthèse des protéines musculaires et que les protéines alimentaires à digestion

rapide pourraient être à la base d'une stratégie nutritionnelle adaptée à la personne âgée pour réduire ou ralentir le développement de la sarcopénie (Rieu, 2007).

	SMP	Caséine
Alanine	4,77	2,84
Arginine	2,25	3,50
Aspartic acid	11,34	6,44
Cysteine	3,06	0,41
Glutamic acid	17,10	21,75
Glycine	1,98	1,74
Histidine	2,00	2,70
Isoleucine	5,04	4,92
Leucine	12,00	9,05
Lysine	9,63	7,39
Methionine	2,07	3,21
Phenylalanine	3,78	4,86
Proline	4,59	10,30
Serine	4,50	5,02
Threonine	5,04	3,67
Tryptophan	2,07	1,07
Tyrosine	3,47	5,03
Valine	5,13	6,22

Tableau 3: Composition en Acides Aminés (gr) pour 100gr de protéines soluble du lait et la caséine (Babault, 2014).

Par ailleurs, La leucine (Leu) est connue pour ses propriétés stimulatrices de la synthèse protéique musculaire chez les personnes âgées (Fujita, 2006; Rieu, 2006). L'effet de la Leu sur la synthèse protéique musculaire, serait dû à une action directe sur l'initiation de la traduction des ARN (Dardevet, 2000; Fujita, 2006). Cet effet est atténué avec l'âge mais, apportée en excès, la Leu pourrait corriger la résistance à la renutrition retrouvée chez la personne âgée et ainsi augmenter la vitesse de synthèse protéique musculaire (Fujita, 2006; Katsanos, 2006). Cependant, la perte de sensibilité du métabolisme protéique musculaire à la leucine pourrait en partie expliquer la perte de l'effet anabolique du repas au cours du vieillissement. En effet, un régime supplémenté en leucine, chez les sujets âgés, permet d'augmenter la vitesse de synthèse protéique ainsi que la restauration de son effet signal dans le muscle squelettique (Dardevet, 2000; 2002 ; Rieu, 2006). Le même effet positif a été observé sur la régulation de la protéolyse musculaire (Combaret, 2005). Ces études montrent bien que la sensibilité du métabolisme protéique des individus âgés à l'effet repas peut être restaurée en augmentant les concentrations plasmatiques de leucine au moment de la prise alimentaire

(Rieu, 2006). Une étude réalisée chez le rat âgé en utilisant des protéines laitières plus ou moins riches en leucine montre que plus la concentration en leucine de la protéine est élevée, plus la concentration en leucine plasmatique post-prandiale est élevée et plus la stimulation de la synthèse des protéines musculaires est efficace (Rieu, 2007).

V-2-2. D/ Impact des protéines laitières sur le stress oxydant et l'inflammation chez la personne âgée:

Jusqu'au 2006, les causes de la perte de sensibilité du muscle à l'effet anabolique du repas étaient quasiment inconnues. Les populations âgées sont très hétérogènes et ceci ne facilite pas l'identification d'un paramètre susceptible d'être à l'origine de ces altérations. Parmi les facteurs d'hétérogénéité, on trouve la micro-inflammation chronique et le stress oxydant plus ou moins marqué. La prise en charge du statut inflammatoire des personnes âgées pourrait être bénéfique dans le maintien des performances physiques au cours du vieillissement (Balage, 2010; Rieu, 2009). L'origine de l'état inflammatoire qui se développe avec l'âge pourrait être le résultat d'une inflammation intestinale chronique par stimulation anormale des défenses immunitaires intestinales par les bactéries ou les aliments (allergies). Par ailleurs, le contrôle du stress oxydant qui se développe au cours du vieillissement pourrait représenter une stratégie à mettre en œuvre dans le maintien de la masse musculaire au cours du vieillissement (Marzani, 2008; Mosoni, 2010). L'addition d'antioxydants à l'alimentation des personnes âgées a donné des résultats encourageants puisqu'elle a augmenté la resensibilisation du muscle à l'effet stimulateur du repas et plus particulièrement à celui des protéines alimentaires.

VI-2-3/ Les lipides:

Les lipides sont les macronutriments qui constituent les graisses animales et végétales. Il existe différents types de lipides, classés en fonction de leur structure. On retrouve, tout d'abord les lipides simples, qui sont des esters d'alcools ou d'acides gras (AG), étant les constituants élémentaires des lipides (Fahy, 2005). Parmi ces lipides simples, on distingue les mono-glycérides (1 AG), les diglycérides (2 AG) et les triglycérides (3 AG). Les acides gras sont formés d'une chaîne hydrocarbonée avec un groupement carboxyle (COOH) à une extrémité et un groupement méthyle (CH₃) à l'autre extrémité (Guesnet, 2005) (**Figure 25**) reliées entre elles par des liaisons covalentes. Les AG sont classés selon (**Figure 25**).

1- La longueur de la chaîne carbonée qui possède dans la majorité des cas un nombre pair de carbone (C). Les AG de 16 à 22 C sont les plus représentés parmi les lipides alimentaires, mais les chaînes courtes ou moyennes (C4-C12), beaucoup moins importantes en quantités, sont potentiellement

importantes également et sont caractéristiques des produits animaux (matières grasses laitières, lait maternel) et sont aussi retrouvées dans certaines graisses végétales (coprah).

2- Le nombre de doubles liaisons allant de 0 à 6 doubles liaisons: les AG saturés ne possèdent aucune double liaison. Les AG mono-insaturés possèdent une seule double liaison et les AG polyinsaturés présentent plusieurs doubles liaisons séparées par une unité méthylène. Chaque double liaison est représentée par le symbole (n) suivi d'un chiffre indiquant sa position, par rapport à l'extrémité du groupement méthyl de la chaîne (**Tableau 4**).

3- Le positionnement des atomes d'hydrogène autour des doubles liaisons: il existe la forme naturelle majeur «cis» où les deux atomes d'hydrogène adjacents sont du même côté, et la forme «trans» où les atomes d'hydrogène sont du côté opposé de la double liaison. A l'état naturel, la majorité des acides gras ont la configuration cis.

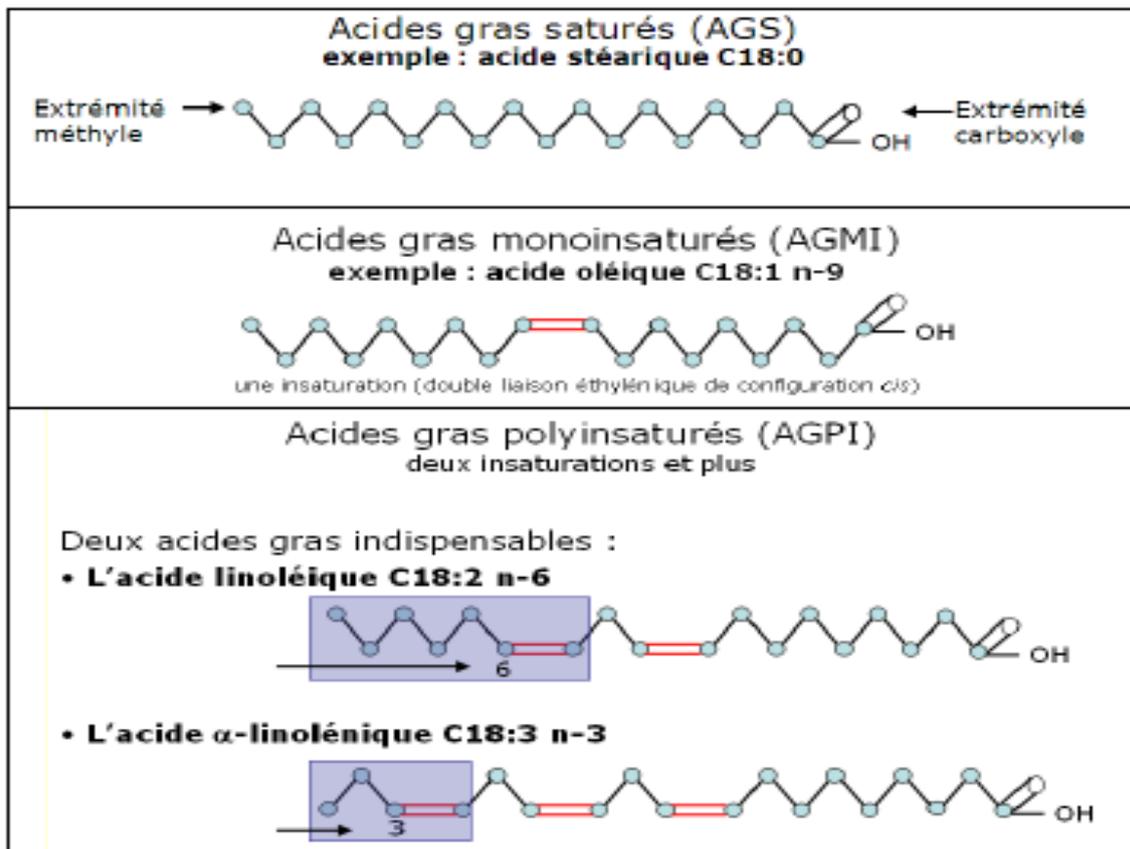


Figure 25: Structure et nomenclature des principales familles des acides gras (Guesnet, 2005). La chaîne carbonée est représentée par la succession de sphères (atomes de carbone).

Catégorie	Formule	Nom commun	Abréviation
Saturés	C4 :0	Acide butyrique	
	C6 :0	Acide caproïque	
	C8 :0	Acide caprylique	
	C10 :0	Acide caprique	
	C12 :0	Acide laurique	
	C14 :0	Acide myristique	
	C16 :0	Acide palmitique	
	C18 :0	Acide stéarique	
	C20 :0	Acide arachidique	
Mono-insaturés	C16 :1 n-7	Acide palmitoléique	
	C18 :1 n-9	Acide oléique	
	C24 :1 n-9	Acide nervonique	
Polyinsaturés	C18 :2 n-6	Acide linoléique	LA
	C20 :4 n-6	Acide arachidonique	AA
	C18 :3 n-3	Acide alpha-linolénique	ALA
	C20 :5 n-3	Acide eicosapentaénoïque	EPA
	C22 :5 n-3	Acide docosapentaénoïque	DPAn-3
	C22 :6 n-3	Acide docosahexaénoïque	DHA

Tableau 4: Classification et nomenclature des acides gras les plus courants.

Les acides gras proviennent, d'une part, de l'alimentation et peuvent être également synthétisés par l'organisme.

V-2-3. 1/ Acides gras alimentaires:

Les acides gras fournis par l'alimentation se présentent essentiellement estérifiés sous forme de triglycérides, qui représentent 95% des lipides alimentaires (AFSSA, 2010, saisine n°2006- SA-0359). Les AG se présentent également estérifiés sous forme de phospholipides qui constituent 1 à 5% des lipides alimentaires et également sous forme d'esters de cholestérol, qui correspondent eux-mêmes à moins de 1% des lipides alimentaires.

Les acides gras saturés, les plus fréquemment rencontrés sont l'acide palmitique (C16:0), l'acide stéarique (C18:0), l'acide laurique (C12:0) et l'acide myristique (C14:0) retrouvés dans les graisses animales (beurre, fromage, saindoux, lard, suif, huile de poisson...) et également dans certaines

matières grasses végétales (huile de noix de coco, beurre de cacao, huile de palme) (Arnault, 2006) (**tableau 5**).

L'acide oléique (C18:1 n-9) est l'acide gras monoinsaturé le plus largement représenté (**Figure 26**). Des quantités importantes d'acide oléique sont présentes dans les huiles végétales (tableau 2) notamment l'huile d'olive, de colza, huile d'arachide et l'huile de sésame, les noix de macadamia, noisette, noix de cajou, amande, dans les fruits (avocat, olive) et également dans les graisses animales comme la graisse de canard et le saindoux. L'acide palmitoléique (C16:1 n-7), qui est représenté en quantité moindre que l'acide oléique, est présent de façon importante dans les huiles de poisson. Parmi les AGPI, il faut distinguer deux familles : omega 6 et omega3 appelées également familles n-6 ou n-3 (voir plus loin). L'acide linoléique (LA, C18:2 n-6) précurseur de la famille des acides gras n-6 est le plus abondant dans l'alimentation (**Figure 26**). Les sources importantes sont les huiles végétales, notamment l'huile de tournesol et l'huile de maïs. L'acide alpha-linolénique (ALA, C18:3 n-3) précurseur des acides gras de la famille n-3 est également largement rencontré dans la nature bien qu'en quantités moindres que le LA. Les aliments riches en ALA sont les huiles végétales hautement insaturées, dont l'huile de colza et l'huile de soja, de lin et les noix. Les produits laitiers peuvent être également des sources significatives d'ALA ainsi que les légumes verts malgré leur faible contenu en lipides. L'alimentation animale enrichie en graines de lin peut également représenter une source intéressante d'ALA pour l'alimentation humaine (Legrand, 2001 ; 2004; Weill, 2002).

Les principales sources de longue chaîne polyinsaturée diffèrent selon leur famille. Pour les omega6, l'acide arachidonique (ARA, C20:4 n-6) est largement présent dans les œufs, les viandes et la charcuterie. Les acides gras à longue chaîne de la famille des oméga 3 sont présents en quantité importante dans les poissons, crustacés et certains produits animaux. Les poissons et les crustacés sont les sources principales de l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5 n-3) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6 n-3). L'acide docosapentaénoïque (DPA, C22:5 n-3) est également trouvé en quantité importante dans la viande et la charcuterie.

Les acides gras (% des acides gras totaux)		Lipides laitiers	Huile de palme	Huile de tournesol riche en acide oléique	Huile de Colza	Huile de Soja	Huile de tournesol
SATURES							
ACIDE BUTYRIQUE	C4:0	3,1 - 4,4					
ACIDE CAPROIQUE	C6:0	1,8 - 2,7	ND	ND	ND	ND	ND
ACIDE CAPRYLIQUE	C8:0	1,0 - 1,7	ND	ND	ND	ND	ND
ACIDE CAPRIQUE	C10:0	2,2 - 3,8	ND	ND	ND	ND	ND
ACIDE LAURIQUE	C12:0	2,6 - 4,2	ND - 0,5	ND	ND	ND - 0,1	ND - 0,1
ACIDE MYRISTIQUE	C14:0	9,1 - 11,9	0,5 - 2,0	ND - 0,1	ND - 0,2	ND - 0,2	ND - 0,2
ACIDE PALMITIQUE	C16:0	23,6 - 31,4	39,3 - 47,5	2,6 - 5,0	2,5 - 7,0	8,0 - 13,5	5,0 - 7,6
ACIDE STEARIQUE	C18:0	10,4 - 14,6	3,5 - 6,0	2,9 - 6,2	0,8 - 3,0	2,0 - 5,4	2,7 - 6,5
ACIDE ARACHIDIQUE	C20:0	0,35	ND - 1,0	0,2 - 0,5	0,2 - 1,2	0,1 - 0,6	0,1 - 0,5
ACIDE LIGNOCERIQUE	C24:0	0,14	ND	ND - 0,5	ND - 0,3	ND - 0,5	ND - 0,5
MONOINSATURES							
ACIDE PALMITOLEIQUE	C16:1 n-7	1,04 - 2,0	ND - 0,6	ND - 0,1	ND - 0,6	ND - 0,2	ND - 0,3
ACIDE OLEIQUE	C18:1 n-9	14,9 - 22,0	36,0 - 44,0	75 - 39,4	51,0 - 70,0	17,0 - 30,0	14,0 - 39,4
ACIDE NEVRONIQUE	C24:1 n-9		ND	ND	ND	ND	ND
POLYINSATURES							
n-6 PUFA							
ACIDE LINOLEIQUE (LA)	C18:2 n-6	1,2 - 1,7	9,0 - 1,2	2,1 - 17	15,0 - 30,0	48,0 - 59,0	48,3 - 74,0
ACIDE ARACHIDONIQUE (AA)	C20:4 n-6	0,14					
n-3 PUFA							
ACIDE ALPHA-LINOLENIQUE (ALA)	C18:3 n-3	0,9 - 1,2	ND - 0,5	ND - 0,3	5,0 - 14,0	4,5 - 11,0	ND - 0,3
ACIDE EICOSATRIENOIQUE (Mead)	C20:3 n-3	0,1					
ACIDE EICOSAPENTAENOIQUE (EPA)	C20:5 n-3	0,09					
ACIDE DOCOSAPENTAENOIQUE (DPA)	C22:5 n-3	0,04					
ACIDE DOCOSAHEXAENOIQUE (DHA)	C22:6 n-3	0,01					
Ratio n-6/n-3		>>>	>>>	>>>	2,45	6,9	>>>

Tableau 5: Composition en acides gras des lipides laitiers et des principales huiles végétales.

V-2-3. 2/ Synthèse des acides gras

V-A/ Synthèse des acides gras saturés:

Les acides gras saturés peuvent également être synthétisés de novo par le foie, le cerveau le tissu adipeux, et la glande mammaire au cours de la lactation (Legrand, 2007). L'importance de cette synthèse va dépendre de l'apport alimentaire. Ainsi, elle augmente lorsque l'apport calorique dépasse les besoins énergétiques ou lors d'une alimentation riche en hydrates de carbone. La synthèse de novo des acides gras ou lipogenèse a lieu dans le cytosol des cellules des différents tissus. Les acides gras sont formés à partir de l'acétyl-coenzyme A (acétyl- CoA) qui provient de l'oxydation du pyruvate produit lors de la dégradation du glucose, de la dégradation des acides aminés, de l'oxydation de l'alcool et de la fermentation des fibres alimentaires.

V-B/ Synthèse des acides gras monoinsaturés:

Une partie importante des acides gras saturés est convertie en acides gras monoinsaturés, chez l'homme, grâce à une enzyme, la Delta9 Désaturase, qui introduit une double liaison sur l'acide palmitique (C16:0) et sur l'acide stéarique (C18:0) pour former respectivement l'acide palmitoléique (C16:1 n-7) et l'acide oléique (C18:1 n-9), qui sont les deux principaux AGMI (**Figure 26**). Cependant, l'acide palmitoléique est faiblement synthétisé par rapport à l'acide oléique qui est activement synthétisé par les cellules.

V-C/ Synthèse des acides gras polyinsaturés.

VI-C. 1/ Les deux principales séries d'AGPI (Figures: 26, 27)

Comme indiqué plus haut, on distingue deux principales séries d'AGPI: les AGPI n-6 et les AGPI n-3, qui se distinguent par la position de leur première double liaison à partir de l'extrémité méthyle (entre le 6e et 7e carbone pour les AGPI n-6 ; entre le 3e et 4e carbone pour les AGPI n-3). Ces principaux acides gras polyinsaturés proviennent des précurseurs de ces 2 familles, l'acide linoléique (LA, 18 :2n-6) pour les AGPI n-6 et l'acide α - linoléique (ALA, 18 :3n-3) pour les AGPI n-3, après une suite d'élongations et de désaturations. Ces deux AG précurseurs ne peuvent être synthétisés par l'organisme des mammifères faute de matériel enzymatique adéquat (absence des enzymes désaturases $\Delta 12$ et $\Delta 15$) nécessaires à leur synthèse respective à partir de l'acide oléique (18:1 n-9) et doivent être apportés par l'alimentation; ils sont ainsi qualifiés AG indispensables.

Une fois absorbés, ces précurseurs conduisent à la synthèse spécifique au niveau du foie d'AGPI à longue chaîne (AGPI-LC). Dans le réticulum endoplasmique (RE), ils subissent une série de désaturations (ajout de doubles liaisons) et d'élongations (ajout d'atomes de carbones) successives à partir de leur extrémité carboxyle, conservant ainsi la structure n-6 et n-3 des précurseurs d'origine

végétale. Les principaux AGPI dérivés à longues chaînes ainsi formés dans les organismes animaux sont les acides dihomogamma-linolénique (20:3 n-6, ou DGLA) et arachidonique (20:4 n-6, ou ARA) pour la famille des oméga 6, et les acides eicosapentaénoïque (20:5 n-3, ou EPA) et docosahexaénoïque (22:6 n-3, ou DHA) pour la famille des oméga 3. La synthèse des acides docosapentaénoïque (DPA, 22:5 n-6) et docosahexaénoïque (DHA, 22:6 n-3) est réalisée dans les peroxysomes par β -oxydation partielle d'AGPI à 24 carbones (Moore, 1995; Sprecher, 2002; Burdge, 2005).

En condition d'apport alimentaire équilibré, la voie de synthèse de la famille des AGPI n-6 s'arrête globalement au niveau de l'ARA; mais lors d'une déficience en AGPI n-3, celle-ci se poursuit jusqu'à la production de DPA n-6 qui vient totalement compenser la diminution de DHA et le remplacer (notamment dans le cerveau et les membranes); il peut ainsi être considéré comme un marqueur de la carence en AGPI n-3. Il n'existe pas d'interconversions entre les deux familles n-3 et n-6, elles sont indépendantes l'une de l'autre. (Legrand, 2004; Guesnet, 2005). Par ailleurs, leurs précurseurs servent de substrats aux mêmes désaturases $\Delta 5$ et $\Delta 6$, pour être convertis vers leurs acides gras à longues chaînes respectifs; ainsi ces deux familles entrent en compétition métabolique. La quantité de dérivés n-6 ou n-3 synthétisés est donc fortement influencée par les apports alimentaires en précurseurs, et plus particulièrement par le rapport entre LA et ALA.

Toutefois, les AGPI-LC peuvent également être apportés directement par l'alimentation et sont donc considérés comme des acides gras «conditionnellement indispensables» puisque l'homme peut les synthétiser s'il dispose des acides gras précurseurs essentiels. Par ailleurs, la conversion de LA et ALA en dérivés serait peu efficace chez l'homme adulte (Astorg, 2007). Des apports adéquats en AGPI à longues chaînes sont donc importants et apportent une « sécurité » dans le maintien d'un fonctionnement optimal des cellules. La synthèse en AGPI-LC reste toutefois minoritaire (inférieure à 5%), par rapport, à la dégradation des précurseurs par β -oxydation (60%) (Cunnane, 2001) pour fournir de l'énergie à l'organisme (Brenna, 2009; Plourde, 2007; Sinclair, 2002) et à l'utilisation comme source d'acétate pour la synthèse d'acides gras saturés et monoinsaturés (Brenna, 2002). Cette conversion est plus importante chez les femmes que chez les hommes, du fait de l'activation de la voie péroxisomale et de la régulation de l'activité et de l'expression des désaturases, par les hormones féminines (Burdge, 2005; Extier, 2009; 2010). La compétition métabolique ne concerne pas seulement les désaturases, mais également les acyltransférases (incorporation dans les phospholipides) et les enzymes de synthèse des eicosanoïdes (prostaglandines et thromboxanes) (Legrand, 2004; Burdge, 2005).

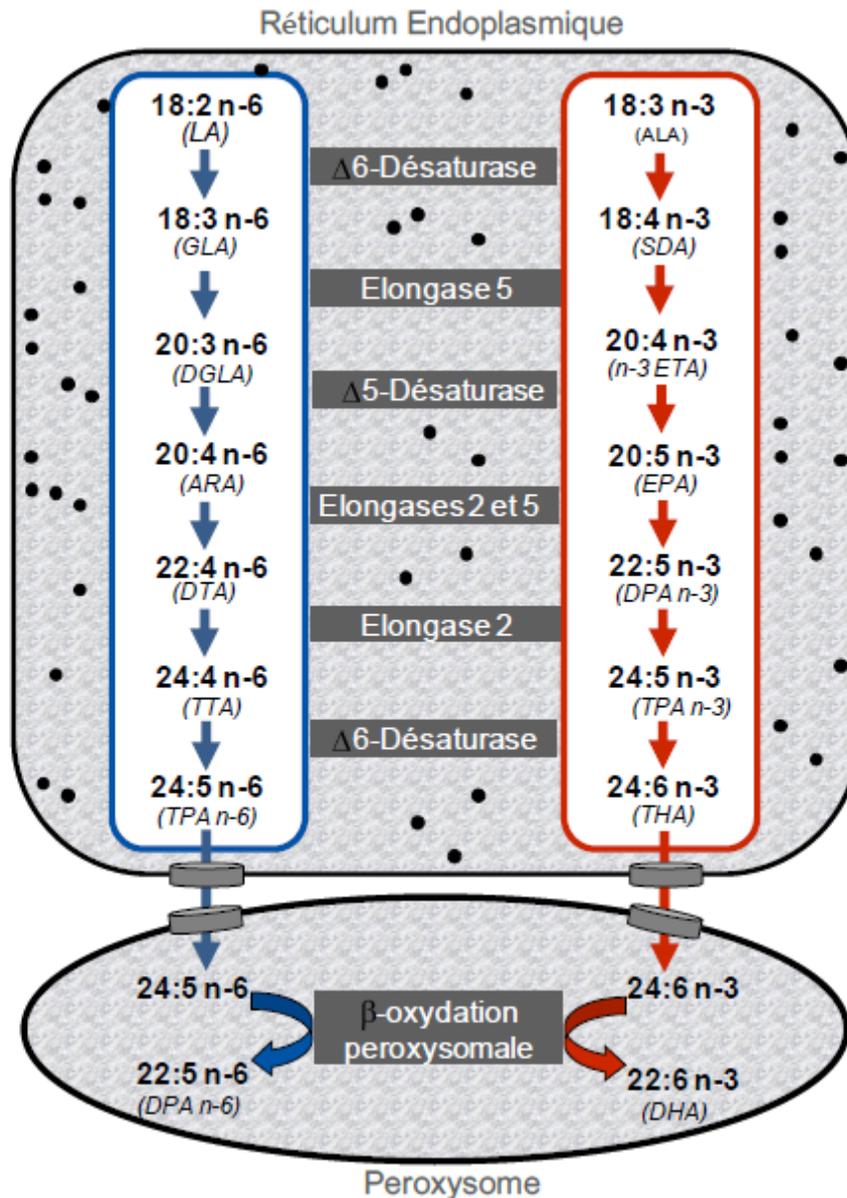


Figure 26: Voies de biosynthèse des acides gras polyinsaturés (AGPI) n-6 et n-3 à longue chaîne à partir des AGPI précurseurs indispensables. LA, acide linoléique ; DTA, acide docosatétraoïque (ou adrénique); TTA, acide tétracosatétraoïque ; TPA, acide tétracosapentaénoïque ; THA, acide tétracosahexaénoïque.

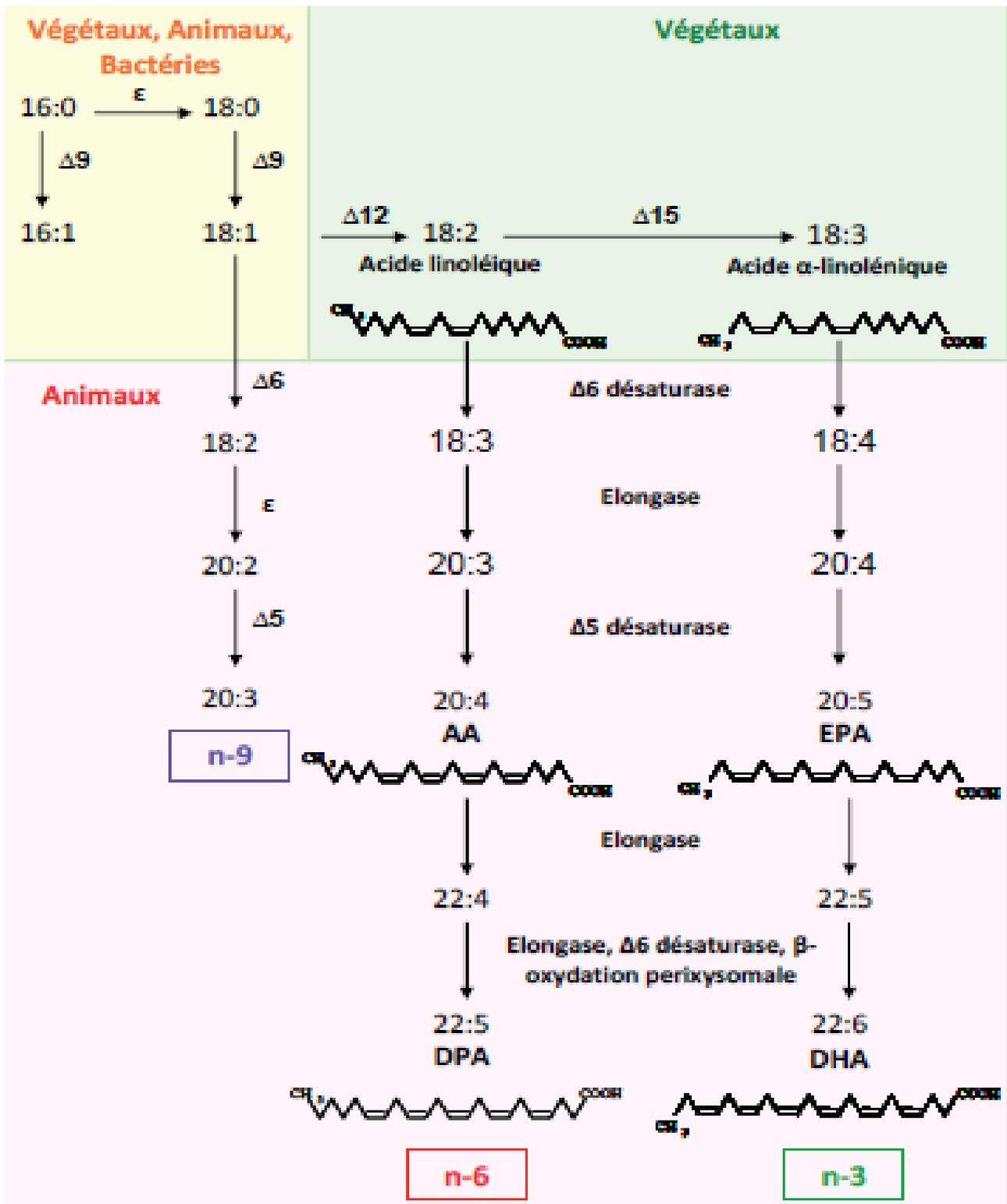


Figure 27: Voie de bioconversion des principales familles d'acides gras polyinsaturés (Legrand, 2007) AA: Acide Arachidonique; DPA: Acide DocosaPentaénoïque; EPA: Acide EicosaPentaénoïque; DHA: Acide DocosaHexaénoïque; ϵ : élongase ; $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$, $\Delta 12$, $\Delta 15$: désaturases

V-3/ Données de consommation en acides gras polyinsaturés:

Dans l'alimentation, les AGPI n-6 et n-3 peuvent être apportés par des sources végétales et animales. Les huiles végétales sont particulièrement riches en AGPI précurseurs: LA et pour certaines en ALA. Ainsi, les huiles de tournesol et d'arachide sont particulièrement riches en LA (respectivement 64 % et 30 % en moyenne des acides gras totaux), l'huile de tournesol étant même qualifiée d'huile «linoléique» par excellence, compte tenu de sa forte teneur en LA. L'ALA est retrouvée dans les huiles de noix, colza et soja (respectivement 12, 10 et 8 % en moyenne des AG) qui sont qualifiées d'huiles « linoléiques »; l'huile de lin occupe une place à part étant peu consommée, car très oxydable (60% ALA): elle sert essentiellement d'appoint pour les fabrications de margarines à taux fixe d'ALA. En revanche les graines de lin sont de plus en plus utilisées dans l'alimentation animale pour augmenter l'apport en ALA et enrichir la viande en omega3 (ALA et ses dérivés LC fabriqués par l'animal). Les huiles « linoléiques » possèdent un ratio n-6/n-3 très élevé (presque infini du fait de l'absence presque complète d'ALA), tandis que le ratio des huiles « linoléiques » est faible (< 10) plus en accord avec les recommandations. En ce qui concerne les AGPI à longue chaîne (AGPI-LC) de la famille oméga 6, ils sont apportés par la consommation de produits animaux terrestres (viande, œuf, lait) et de lait maternel pour le début de vie. Les AGPI-LC oméga 3 sont issus principalement des poissons gras (hareng, maquereau, saumon, thon, sardines) et autres organismes marins tels que les microalgues utilisées comme complément alimentaires. Les produits animaux d'origine terrestre (viande, volaille, oeufs et lait) contiennent majoritairement des dérivés n-6 et des quantités variables de n-3 selon le régime alimentaire des animaux dont sont issus ces produits (Simopoulos, 2001).

La composition en acides gras des lipides du lait maternel n'échappe pas à l'influence de l'alimentation maternelle. Ainsi la composition lipidique du lait humain varie de 0,1 % à 1 % de DHA, et cette variation est associée à la différence de consommation en poissons et fruits de mer (Innis, 2004).

V-4/ Apports nutritionnels conseillés pour les acides gras:

En 2001, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) a établi les Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) pour les acides gras chez l'homme, elle s'est autosaisie en 2006 en publiant un avis en mars 2010 (AFSSA, 2010, saisine n° 2006-SA-0359). Les ANC sont des valeurs de référence, qui couvrent les besoins physiologiques d'un individu en bonne santé (Tableau 1). Ainsi, les nouveaux ANC ont été définis en considérant les besoins physiologiques minimaux et optimaux afin de retarder l'apparition des pathologies (prévention primaire) (**Tableau 6**).

Les ANC sont établis pour le sujet adulte (homme ou femme) pour un apport énergétique de 2000 kcal. Chez l'adulte, la part lipidique dans l'apport énergétique total (AET) est fixée à 35- 40%. De plus, des recommandations particulières ont été établies en fonction des différents types d'acides gras concernés. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'apport énergétique sans alcool, excepté pour l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) où elles sont exprimées en milligrammes. Nous ne montrerons que les apports concernant les 2 grandes familles d'AGPI : les AGPI n-6 et les AGPI n-3. Pour l'acide linoléique, précurseur des AGPI n-6, l'ANC a été fixé à 4% des apports énergétiques (soit 10 g/jour chez l'homme adulte et 8 g/jour chez la femme adulte), tandis que pour l'acide α -linoléique, à 1 % des apports énergétiques totaux (soit 2,5 g/jour chez l'homme adulte et 2 g/jour chez la femme). De plus, il est important de bien équilibrer les apports en AGPI n-6, par rapport, à ceux en AGPI n-3, en vue de pallier aux problèmes de concurrence métabolique entre les deux voies de conversion. Ainsi, dans le cadre d'un régime alimentaire global, il est recommandé que le rapport entre LA et ALA soit inférieur à 5.

Les ANC ont également été établis pour les AGPI-LC n-3. Il est recommandé d'apporter 500mg d'AGPI-LC n-3/jour à l'organisme dont 250 mg de DHA, car, le taux de conversion du précurseur ALA en DHA dans l'organisme serait insuffisant pour satisfaire les besoins de ce dernier.

		Besoin physiologique minimal	Prévention du risque				ANC 2010	
			Syndrome métabolique-diabète-obésité	Pathologies cardiovasculaires	Cancers: sein et côlon	Pathologies neuro-psychiatriques		Autres pathologies
Lipides Totaux		30	30-40	35-40	35-40	35-40	35-40	
AG indispensables	Acide linoléique LA, C18:2 n-6	2	2	5	2	2	≤ 4	4
	Acide α-linolénique ALA, C18:3 n-3	0,8	0,8	1	0,8	0,8	0,8	1
	Acide docosahéxaénoïque DHA, C22:5 n-3	250 mg	500 mg	500-750 mg	500 mg	≥ 200-300 mg	500 mg	250 mg
AG non indispensables	Acide Eicosapentaénoïque EPA, C20:5 n-3	/						250 mg
AG non indispensables	Acide laurique (C12:0)+ Acide myristique (C14:0) + Acide palmitique (C16:0)	/		≤ 8				≤ 8
	Acides gras saturés totaux	/		≤ 12	≤ 12			≤ 12
	Acide oléique C18:1 n-9	/		≤ 20				15-20

Tableau 6: Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) en acides gras pour un adulte consommant 2000 Kcal (Avis du 1^{er} mars 2010 de l'AFSSA). Les valeurs sont exprimées, excepté pour l'EPA et le DHA, en pourcentage de l'apport énergétique sans alcool, que l'on appellera « apport énergétique » (AE), par souci de simplification. Dans le cas du DHA (acide docosahéxaénoïque, C22 :6 n-3) et de l'EPA (acide eicosapentaénoïque, C20 :5 n-3), les valeurs sont exprimées en milligrammes dans la mesure où les études disponibles ont utilisé cette unité.

V-5/ Rôle des AGPI dans le mécanisme d'action membranaire:

Les AGPI, en particulier DHA et ARA sont les constituants important des phospholipides membranaires des cellules et peuvent ainsi jouer un rôle sur l'activité de certains enzymes, de transporteurs, de récepteurs, des canaux ioniques présents au sein des membranes (Frisardi, 2011) (**Figure 28.A**). Contrairement aux acides gras saturés qui ont une conformation droite et rigide, les AGPI présentent des courbures de leurs chaînes carbonée due à la présence de doubles liaisons, qui leurs permettent d'adopter différentes conformations. Ceci permet de moduler leur encombrement stérique (propriété physique) au sein des membranes (Marszalek, 2005; Feller, 2008) (**Figure 28.A**). Ainsi, le DHA joue sur la fluidité membranaire, mais également sur sa perméabilité et sur son élasticité (Stillwell, 2003). La membrane des terminaisons neuronales (Synaptosomes) par exemple, présentant une prédisposition à former des vésicules et à fusionner, est particulièrement riche en DHA (Salem, 2001; Stillwell, 2003). Les AGPI jouent également un rôle dans la formation des

microdomaines membranaires rigides, tels que les Rafts lipidiques (Région membranaire rigides riche en sphingolipides et en cholestérol) (Shaikh, 2003). Ces zones particulières sont associées à de nombreux récepteurs et protéines impliquées dans la signalisation cellulaire (Allen, 2007; Lang, 2007) (**Figure 28.B**).

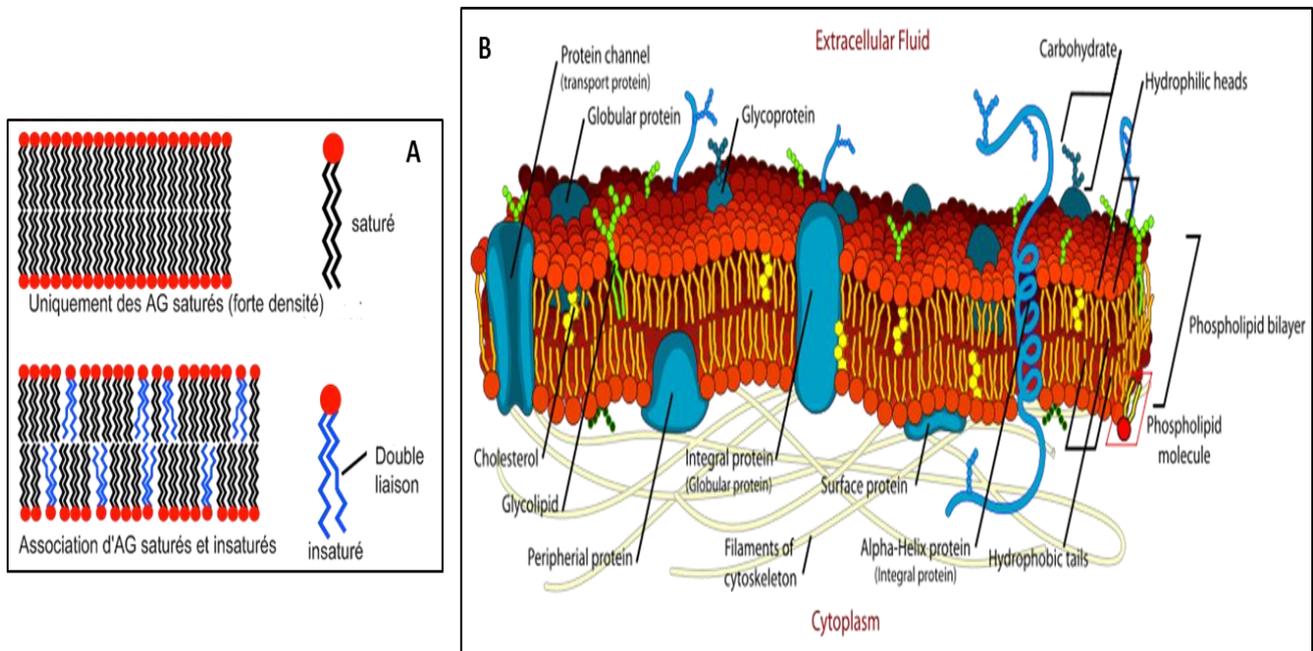


Figure 28: (A) En haut: la membrane est plus dense, moins perméable. En bas : mélange entre acides gras saturés et insaturés, la membrane est plus souple et plus perméable. (B) Schéma représentant la dynamique des membranes biologiques: le modèle de la mosaïque fluide. D'après (<http://www.ustboniface.mb.ca/cusb/abernier/Biologie/Cellule/membranefeilles>).

Les travaux de l'équipe de Kim ont permis d'illustrer l'importance du DHA dans l'accumulation de phosphatidylsérine (PS) au niveau des membranes (Kim, 2010), et jouerait un rôle inhibiteur de l'apoptose des cellules. En effet, l'accumulation de PS dans les membranes favoriserait la translocation et l'activation des voies Akt, Raf et PKC. Ces voies de signalisation vont alors inhiber la caspase 3, membre de la famille des cysteines protéases impliquées dans les phénomènes d'apoptose.

V-5. 1/ Mécanisme d'action des AGPI libres:

Au sein des membranes, les AGPI peuvent être libérés des phospholipides sous l'action des phospholipases A2 (PLA2) (Farooqui, 2006) (**Figure 29**). Plusieurs isoformes de PLA2 sont particulièrement bien décrites dans le cerveau tels que sPLA2 (secretory PLA2), cPLA2 (cytosolique PLA2) et iPLA2 (Ca²⁺ indépendant PLA2) (Burke, 2009 ; Rosa, 2009). Une fois libres, les AGPI sont

pour la majeure partie réincorporés dans les phospholipides membranaires (Chen, 2008), mais peuvent également être convertis en médiateurs oxygénés (eicosanoïdes et docosanoïdes), métabolisés via la β -oxydation afin de fournir de l'énergie, réguler l'activité de certaines protéines et l'expression de certains gènes ou diffuser vers le plasma.

Les AGPI sont les précurseurs de médiateurs oxygénés appelés eicosanoïdes (prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes, leucotriènes et lipoxines) et docosanoïdes (résolvines et neuroprotectines) qui sont synthétisées respectivement à partir d'AGPI à 20 carbones (EPA, ARA ou DHA) (Farooqui, 2007; Orr, 2008). Ces dérivés jouent un rôle de messagers cellulaires et sont impliqués notamment dans les processus d'inflammation (Funk, 2001; Farooqui, 2006).

L'oxygénation des AGPI se fait soit par les lipoxygénases (5, 12, 15-LOX), soit par les cyclo-oxygénases (COX-1 et COX-2).

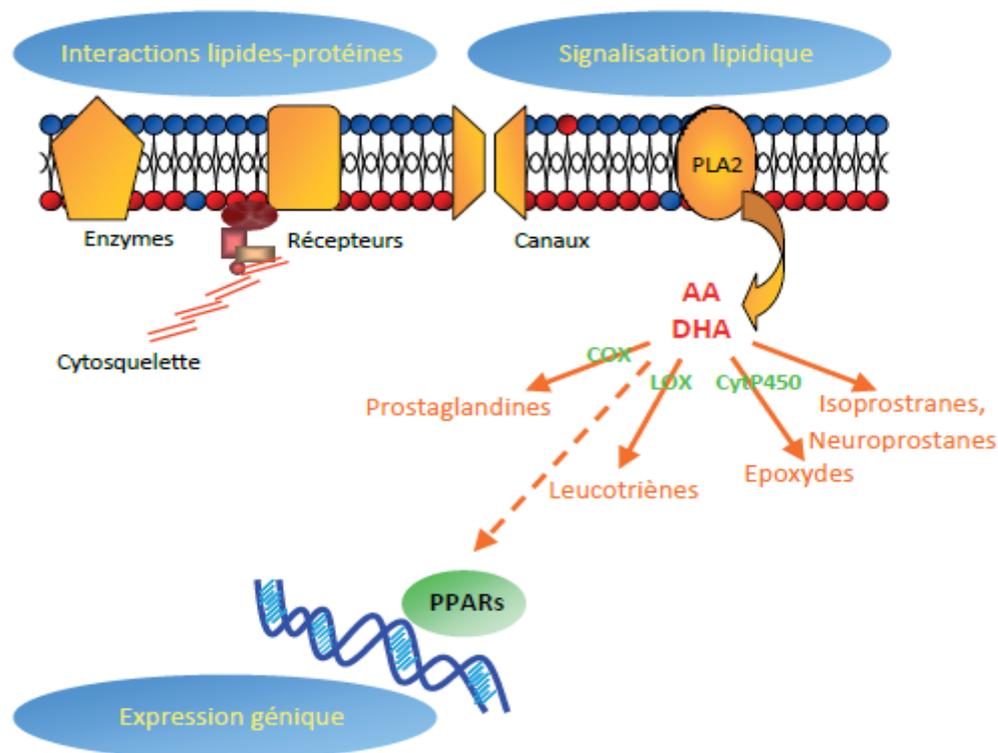


Figure 29 : Principaux modes d'action des AGPI dans la physiologie cellulaire. Le ratio AA/DHA dans les phospholipides membranaires module la physiologie cellulaire en modifiant l'environnement physico-chimiques des protéines membranaires (enzymes, récepteurs et canaux), en modulant le panel des médiateurs oxygénés issus des lipides suite à leur libération des membranes sous l'action des PLA2 et en activant ou réprimant la transcription de certains gènes via les PPARs PLA2 : Phospholipases A2 ; AA : Acide Arachidonique ; DHA : Acide Docosahexaénoïque ; COX : Cyclo- Oxygénase ; LOX : Lipoxygénase ; CytP450 : Cytochrome P450 ; PPAR : Peroxisomale Proliferator Activated Receptor.

Les AG et leurs métabolites régulent l'expression de certains gènes impliqués dans la plasticité synaptique (Dyall, 2008 ; 2010), la neurogénèse (Robson, 2010 ; Su, 2010), la signalisation cellulaire, la formation des canaux ioniques, le métabolisme cérébral et les processus du stress oxydatif ou d'apoptose (Kitajka, 2002 ; Barcelo-Coblijn, 2003) via des facteurs de transcription tels que les PPARs (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor), SREBP-1 (Sterol Regulatory Element Binding Protein) (Langelier, 2005).

Cette action des AGPI sur l'expression génique est extrêmement rapide (Sampath, 2004) et s'effectue de manière directe par liaison avec les facteurs de transcription ou de manière indirecte en inhibant la transcription du récepteur ou sa fixation au gène d'intérêt (Sampath, 2004).

V-6/ Inflammation liée à la synthèse de médiateurs oxygénés par les AGPI:

De manière générale, les médiateurs oxygénés générés à partir des AGPI n-6 ont des propriétés opposées à ceux générés à partir des AGPI n-3; on attribue davantage une action pro-inflammatoire aux AGPI n-6 et une action anti-inflammatoire aux AGPI n-3 (Layé, 2010).

Parmi les dérivés de l'ARA, on trouvera un certain nombre de prostaglandines (PG), de leukotriènes (LT) et d'acides gras hydroperoxydés (HETE, hydroxyeicosatetraenoic) ayant une action pro-inflammatoire. Ainsi, l'ARA a été longtemps connu uniquement pour son rôle d'initiation et de maintien de l'inflammation. Cependant, la classification est assez délicate car certains composés ont des actions à la fois pro- et anti-inflammatoires (Calder, 2006; Serhan, 2011) (**Figure 30**). La PGE2 est capable de réguler sa propre production, en activant, au niveau des fibroblastes, la COX; elle induit également la production d'interleukine IL-6 par les macrophages, ce qui lui confère des propriétés pro-inflammatoires (Bagga, 2003). Cependant, elle pourrait également avoir une activité plutôt anti-inflammatoire en inhibant la 5-LOX et donc la production de LT de série 4 et en activant la 15-LOX permettant la production de lipoxines anti-inflammatoires (Calder, 2006).

Les enzymes de conversion des AGPI n-3 et n-6 en dérivés oxygénés étant communes; il existe une certaine compétition entre les différentes voies. Ainsi une supplémentation en huile de poisson riche en AGPI n-3 réduirait la production des dérivés de l'ARA tels que la PGE2 (Calder, 2006). Par ailleurs, une consommation de compléments alimentaires contenant de l'EPA diminuerait de façon dose dépendante la synthèse de PGE2 par les monocytes chez le sujet âgé (Rees, 2006). De plus, une déficience en AGPI n-3 exacerbe la cascade de signalisation PLA2 induisant une libération massive d'ARA et de ses dérivés eicosanoides pro-inflammatoire (Rao, 2007). Cette synthèse accrue de dérivés oxygénés de l'ARA est observée aussi dans le cas de démence vasculaire et de la maladie

d'Alzheimer à (Yagami, 2006). Parallèlement, l'inhibition de la COX a montré une amélioration des troubles cognitifs et une baisse du stress oxydant (Tassoni, 2008).

En plus de réguler la production de dérivés pro-inflammatoires formés à partir de l'ARA, les AGPI n-3 sont à l'origine de dérivés anti-inflammatoires, comme les résolvines de série E et D (formées respectivement à partir de l'EPA et du DHA) (Arita, 2005; Sun, 2007; Spite, 2009) et les neuroprotectines issues du DHA (Bazan, 2005).

La neuroprotectine D1 (NPD1), première neuroprotectine décrite, fut identifiée dans le cerveau, la rétine, le foie et les reins (Ariel, 2007; Bazan, 2005). Elle est synthétisée à partir du DHA grâce à la 15-LOX. Elle constitue un inhibiteur potentiel de l'apoptose induite par un stress oxydatif important et réduirait les processus pro-inflammatoires liée à la voie impliquant COX-2 (Bazan, 2009). De par ses propriétés, la NPD1 jouerait un rôle potentiellement bénéfique dans la maladie d'Alzheimer. Par induction de programmes anti-apoptotiques et neuroprotecteurs, elle réduirait la neurotoxicité liée aux peptides A β 42 (Lukiw, 2005; Stark, 2011).

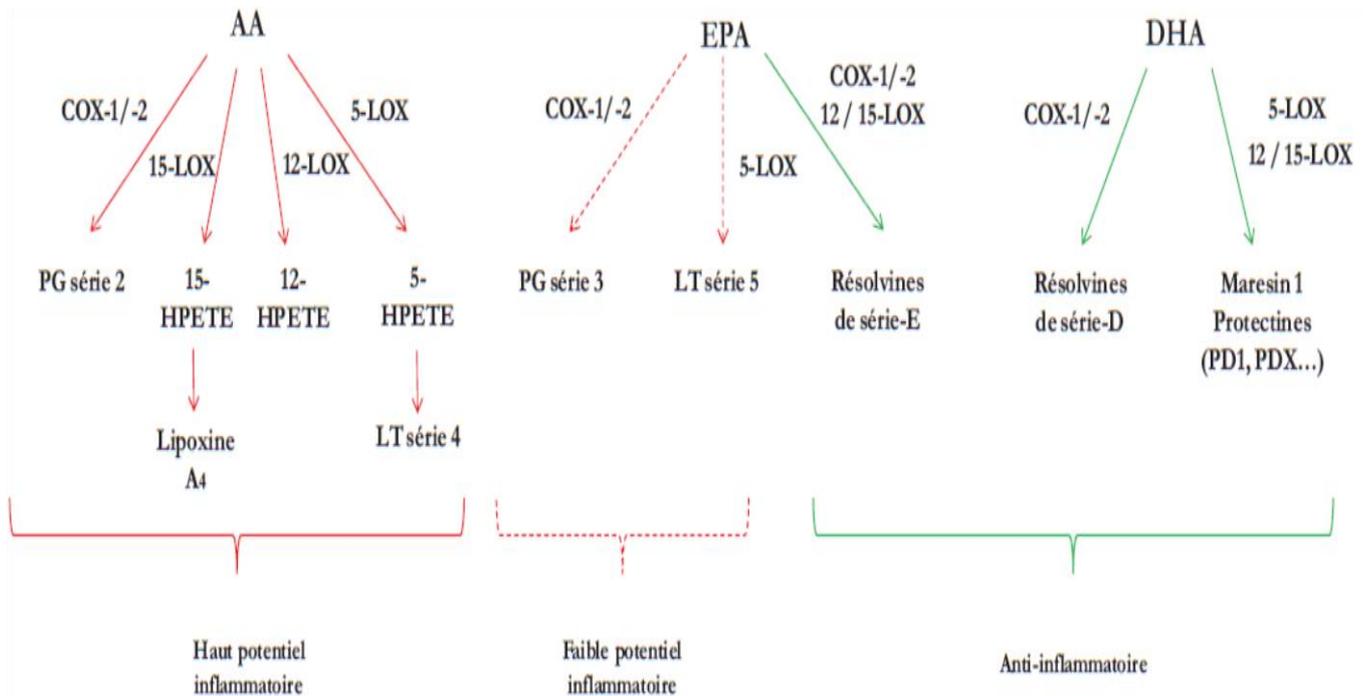


Figure 30: Dérivés pro-inflammatoire de l'AA et anti-inflammatoires du DHA et de l'EPA (Serhan, 2011).

V-6. 1/ DHA et libération de cytokine:

Les AGPI et leurs dérivés peuvent agir sur la synthèse et la libération des cytokines et interférer entre les neurones. Chez l'homme, l'administration d'huile poisson limite la production des cytokines inflammatoires (TNF α , IL1 β) (Pluess, 2007). De même, un régime riche en EPA atténue les effets négatifs de l'IL1 β sur la LTP et la mémoire spatiale chez le rat (Song, 2004; Lynch, 2007). Par ailleurs, plusieurs études ont montré un rôle bénéfique des AGPI n-3 sur les symptômes dépressifs souvent associés à l'élévation de cytokines inflammatoires. Les personnes âgées dépressives présentent des taux élevés de TNF α et d'IL6 corrélés à une augmentation du turn-over cortical de sérotonine (5-HT) (McNamara, 2010). Chez les souris âgées dépressives dont l'expression d'IL6 est augmentée, un apport équilibré en AGPI n-6/n-3 diminue les symptômes dépressifs (Moranis, 2012).

V-7/ Impact des acides gras oméga-3 sur le vieillissement:

Les modifications observées au cours du vieillissement aussi bien chez les modèles animaux que chez l'homme sont complexes, selon les structures, les cellules, les organites et les lipides considérés; les acides gras oméga-3 sont concernés directement ou indirectement (Bourre, 2004). Il est à noter que des docosanoïdes ont été mis en évidence dans le système nerveux (Bazan, 1989; Marcheselli, 2003). Un mécanisme d'action particulier des acides gras oméga-3, et notamment du DHA implique les régulations des ATPases: d'une part, par ce qu'environ 60 % de l'énergie cérébrale est en relation avec ces enzymes (COX et LOX) (Turner, 2003) et, d'autre part, parce que les isoformes de ces enzymes sont modulées par les acides gras oméga-3, soit l'ALA (Gerbi, 1993), soit le DHA et l'EPA des huiles de poisson (Gerbi, 1994). Par ailleurs, le métabolisme péroxysomal est impliqué, en particulier au niveau des acides gras polyinsaturés (Perichon, 1998). Une étude récente a montré que le déficit cognitif lors du vieillissement dans la population est en relation avec la diminution du rapport oméga-3/oméga-6 des érythrocytes (Heude, 2003); un excès nutritionnel en acide linoléique est en relation avec le déclin des performances cognitives, contrairement aux huiles de poisson (Kalmijn, 1997a; 1997b). Par ailleurs, l'augmentation du stress oxydatif lors du vieillissement est due à une diminution des protections contre les radicaux libres, induisant ainsi une diminution des acides gras oméga-3 dans les structures nerveuses. En revanche, une alimentation enrichie en EPA pourrait présenter des propriétés anti-oxydantes qui permettraient de lutter contre les effets du vieillissement (Martin, 2002). En fait, la diminution des teneurs en acides gras polyinsaturés, dans les structures cérébrales, peut résulter soit d'une diminution des transferts à travers la barrière hémato-encéphalique, soit d'une réduction de leur incorporation dans les membranes, soit d'un amoindrissement des activités des delta-6 ou delta-5 désaturases; mécanismes auxquels s'ajoute le

stress oxydatif qui augmente la production des radicaux libres et par conséquent perturbe les fluidités membranaires (Yehuda, 2002). La phosphatidylcholine améliore la mémoire, l'apprentissage, la concentration, la mémoire des mots et l'humeur chez les personnes âgées en déclin cognitif (Kidd, 1999). Associée à la vitamine B12, la phosphatidylcholine améliore les performances d'apprentissage, notamment chez la souris vieillissante (Hung, 2001). Mais il reste certain qu'un approvisionnement adéquat en acides gras oméga-3 assure un bon renouvellement des membranes, et protège contre le vieillissement cérébral.

V-8/ Cas particulier de l'impact des acides gras de la famille des oméga-3 sur les neuropathologies liées au vieillissement

les acides gras de la famille des oméga-3 interviennent, dans la prévention des maladies vasculaires, d'une part l'ALA lutte contre l'agrégation plaquettaire et l'inflammation (soit directement, soit par sa transformation en EPA), et, d'autre part, les longues chaînes carbonées (EPA et DHA) qui modulent, entre autres, les triglycérides sériques; tous agissent sur la physiologie des cellules endothéliales et musculaires des parois vasculaires, sur la pression sanguine, évitent l'arythmie cardiaque, l'inflammation, etc. De plus, les acides gras oméga-3 jouent un rôle indispensable dans la construction, le maintien et le fonctionnement du cerveau. Tous les lipides de cet organe, en particulier les phospholipides, participent aux structures des membranes biologiques et ne sont pas utilisés à des fins énergétiques. Ces phospholipides sont formés d'acides gras; environ un tiers des acides gras cérébraux sont polyinsaturés. Parmi ceux-ci, un tiers (avec des variations selon les régions cérébrales) sont issus de la famille oméga-3. Les acides gras oméga-3 sont donc à prendre sérieusement en compte dans le cadre du cerveau et de ses fonctions supérieures (Bourre, 2004). Dans un premier temps, il a été montré que la différenciation et la fonctionnalité de cultures cellulaires de cerveau dissocié nécessitent non seulement l'ALA, mais aussi les très longues chaînes carbonées oméga-3 et oméga-6 (Bourre, 1983). Il a ensuite été démontré que la carence alimentaire en ALA altérait le cours du développement cérébral, perturbait la composition des membranes des cellules du cerveau, neurones, oligodendrocytes astrocytes et d'organites comme la myéline et les terminaisons nerveuses (Bourre, 1984). Cette carence se traduit par des dérèglements physico-chimiques, induisant des perturbations biochimiques et physiologiques, elle génère des perturbations neurosensorielles et comportementales.

Des études réalisées chez les modèles expérimentaux ont montré que la carence alimentaire en ALA induit des déficits comportementaux et cognitifs, en particulier au niveau de l'apprentissage (Bourre, 1989; Yamamoto, 1991; Wainwright, 2002) et de la mémorisation (Su, 2010). Une supplémentation ponctuelle en AGPI ω -3 peut améliorer certains scores cognitifs chez l'individu âgé en condition

physiologique (Petursdottir, 2008; Kelly, 2011; Labrousse, 2012) ou pathologique (Hooijmans, 2008; Hashimoto, 2011). Le DHA a certainement joué un rôle important dans l'évolution du cerveau humain (Crawford, 2001). Toutefois, les rôles respectifs de la composante vasculaire et du parenchyme cérébral ne sont pas encore clairement définis. Ainsi, une relation est faite entre la démence et le risque cardiovasculaire, avec un déficit en acides gras oméga-3, auquel s'ajoute une augmentation des concentrations en homocystéine (Severus, 2001). L'hyperhomocystéinémie constitue d'ailleurs un risque psychiatrique au cours du vieillissement (Reutens, 2002). Par ailleurs, le DHA (1,5 à 1,8 g quotidiens de DHA à partir d'huile de poisson) a une activité anti-stress, et diminue les tendances agressives chez les jeunes adultes en modulant le stress (Hamazaki, 2000). À des doses voisines administrées pendant 2 mois à des personnes âgées de 50 à 60 ans, l'agressivité est diminuée de 30 %, alors que des doses de 150 mg quotidiennes sont insuffisantes (Hamazaki, 2002). Il est intéressant de noter que les acides gras oméga-3 diminueraient la perception de la douleur, en impliquant directement les processus neuronaux et gliaux qui génèrent la douleur inflammatoire (Shapiro, 2003).

Des études épidémiologiques ont montré l'intérêt des acides gras oméga-3 dans le cadre de la prévention des démences. Plus précisément, une forte consommation d'acides gras insaturés et de graisses non-hydrogénées protégerait contre la maladie d'Alzheimer, le contraire étant observé avec les graisses saturées et les acides gras trans (Morris, 2003). La consommation de poisson gras (Maquereaux, sardine, saumon) exerce un effet protecteur contre les démences et l'Alzheimer. Par ailleurs, des taux plasmatiques bas en acides gras oméga-3 (notamment en DHA) constituent des facteurs de risque pour le déficit cognitif et divers types de démences, y compris celle d'Alzheimer (MA) (Conquer, 2000). Il existe des facteurs nutritionnels communs entre la démence vasculaire et la maladie d'Alzheimer: Un excès d'acides gras oméga-6 et un déficit en acides gras oméga-3 induisent des altérations de la microvascularisation, une inflammation chronique, une agrégation plaquettaire et des dysfonctionnements endothéliaux (Otsuka, 2002). Cette hypothèse expliquerait, partiellement, que les perturbations cognitives chez l'homme très âgé sont positivement corrélées à la consommation d'acide linoléique, et négativement avec celle de poisson (Kalmijn, 1997). Toutefois, Un mélange d'ALA et d'acide linoléique dans un rapport quantitatif de 1/4 (administré sous forme de capsules dans l'étude en question) améliore la qualité de la vie de MA, mesurée par des tests divers (orientation spatiale, coopération, humeur, appétit, mémoire à court et à long terme, hallucinations, sommeil) (Yehuda, 1996).

Cependant, les résultats restent, à ce jour, assez disparates et certaines études n'ont pas permis de confirmer cet effet bénéfique des AGPI ω -3 sur le déclin cognitif et le développement de maladies neurodégénératives (Arendash, 2007; Van de Rest, 2008; Fotuhi, 2009). Le rôle des AGPI ω -3 est

donc complexe et les données publiées dépendent fortement, du modèle utilisé, du stade d'avancement du déclin cognitif et/ou de la pathologie, ainsi que du type de supplémentation.

V-9/ Besoins en micronutriments:

Bien que les besoins en certains éléments nutritifs soient réduits avec l'âge, la consommation de plusieurs micronutriments devrait être augmentée chez la personne âgée étant données la diminution de l'efficacité de la digestion et de l'absorption causées par le vieillissement et les certaines maladies associées (Chernoff, 2005).

Parmi les micronutriments, nous ne verrons ici que la vitamine D qui fait partie des modifications induites dans les régimes étudiés dans le protocole de l'étude.

Les vitamines se définissent comme des substances organiques sans valeur énergétique. Cependant elles sont indispensables à l'organisme. L'homme étant incapable de les synthétiser (à l'exception de la vitamine D et de la niacine ou vitamine B3 ou PP), elles doivent être fournies par l'alimentation. Par ailleurs, la vitamine D est la seule vitamine liposoluble qui ne soit pas apportée majoritairement par l'alimentation. En effet, chez l'homme la vitamine D peut être synthétisée par les cellules profondes de l'épiderme suite à une exposition solaire sous l'action des rayons ultraviolets. La fonction première de la vitamine D est d'augmenter l'absorption intestinale du calcium favorisant ainsi la minéralisation et le métabolisme osseux. Elle est aussi impliquée dans de nombreuses fonctions physiologiques: elle favorise la reproduction chez l'animal, participe à la différenciation, au métabolisme et aux activités des cellules immunitaires et joue un rôle sur la force musculaire.

Une carence en vitamine D engendre donc une ostéomalacie, une ostéoporose, une faiblesse musculaire et une diminution des fonctions immunitaires (Breuil, 2004). Chez les adultes jeunes, les ANC ont été fixés à 5µg/jour. Cependant, avec l'âge, on observe une diminution de synthèse de la vitamine D au niveau de la peau. Les ANC sont donc augmentés à 400-600UI/jour pour les personnes âgées. Au niveau de l'alimentation, on retrouve la vitamine D essentiellement dans les poissons de mer gras (saumon).

Chez les personnes âgées, des apports accrus de calcium et des vitamines D et K, sont nécessaires pour la prévention de l'ostéoporose et pour le maintien de la fonte musculaire et de la densité osseuse. Des apports adéquats d'acide folique, de riboflavine et des vitamines B1 et B6 pourraient prévenir le déclin des fonctions cognitives. Les vitamines E et C, étant des antioxydants, jouent un rôle dans la prévention des maladies chroniques (Payette, 2007). Bien que la carence en vitamine B12 touche environ 30% des personnes âgées de plus de 60 ans (Baik, 1999) les recommandations pour la vitamine B12 chez les personnes âgées sont les mêmes que chez les adultes (Marian, 2009).

Quant aux minéraux, leurs recommandations ne changent pas avec le vieillissement. Cependant, les études ont montré que pour la majorité des minéraux, leurs niveaux sont sous-optimaux (Marian, 2009). De plus, l'apport de vitamines et de minéraux est associé à la quantité totale de nourriture ingérée. Si l'apport en vitamines et minéraux est déjà marginal, il peut tomber à des niveaux trop faibles puisque l'apport total alimentaire diminue avec l'âge (Kritchevsky, 2012). En effet, plusieurs enquêtes nationales ont montré qu'un pourcentage non négligeable de personnes âgées ne reçoit pas les quantités recommandées de nombreux nutriments à partir d'une alimentation normale seule (Sebastian, 2007). Plus particulièrement, les apports en vitamines A, C, D, E, K, D et acide folique et en minéraux comme le calcium, le magnésium, le fer et le zinc posent problèmes pour les personnes âgées (Marian, 2009). Toutefois, si les modifications alimentaires visant à améliorer l'apport sont primordiales, l'utilisation de compléments chez les personnes âgées semble être bénéfique afin d'atteindre les apports adéquats de ces micronutriments (Marian, 2009; Sebastian, 2007). Ces recommandations sont élaborées pour les personnes âgées d'une façon générale afin d'assurer un « vieillesse réussie ». Cependant, ces recommandations ne s'appliquent pas aux personnes âgées ayant des maladies chroniques nécessitant une thérapie nutritionnelle ou lorsqu'il y a une interaction médicament-nutrition.



Objectifs

2. OBJECTIF DU TRAVAIL

La malnutrition des personnes âgées est désormais considérée comme un problème de santé majeur. Plusieurs études montrent que la malnutrition augmente avec l'âge et est accompagnée de plusieurs troubles et dysfonctionnements métaboliques, notamment une perturbation de l'homéostasie énergétique, installation d'une insulino-résistance, la fragilité, la diminution de la masse musculaire et des troubles de la réponse immunitaire. Ainsi, La manipulation nutritionnelle, au cours du vieillissement, est considérée comme l'une des solutions possible pour surmonter, ou atténuer ces troubles liés au vieillissement. Parmi les substances nutritives qui ont été largement étudiées, la composition en protéines (ou acides aminés), la qualité des lipides (AGPI n-3) et les vitamines. En dépit de ces études qui tentent de réduire la malnutrition, en adaptant l'alimentation à travers des suppléments nutritionnels, il semble également nécessaire d'étudier les meilleures combinaisons d'apports « naturels » en protéines et en lipides (quantité et qualité) ainsi qu'en micronutriments (vitamine D) pour les personnes âgées. C'est pour cette raison que nous avons entrepris une étude des conditions de renutrition en mimant les besoins de l'Homme et ce, à partir d'un modèle de malnutrition chez des rats âgés.

Mon travail de thèse a pour but principal, à partir de l'évaluation de l'impact de la dénutrition chez le rat âgé, de déterminer le potentiel de différentes formules de réalimentation et notamment celles contenant un mélange à haute teneur en protéines solubles de lait, associée à un apport lipidique comportant à la fois de la matière grasse laitière et un apport en alpha-linolénique sous sa forme la plus efficace (huile de colza ratio n-6/n-3 faible), complétée par du DHA et enrichie en vitamine D. Mes résultats seront présentés en deux parties:

En première partie, nous avons évalué l'impact de différents régimes alimentaires au cours de la période de renutrition sur la composition en acides gras (AG) du plasma, des globules rouges et du cerveau des rats âgés dénutris ainsi que ses conséquences sur les AG marqueurs du statut inflammatoire. Ces résultats sont présentés sous forme d'un manuscrit soumis pour publication.

En deuxième partie, nous avons déterminé l'impact de différents régimes alimentaires au cours de la période de renutrition sur la réponse hépatique à l'insuline, l'expression de gènes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique. Ces résultats sont également présentés sous forme d'un manuscrit soumis pour publication.



Résultats

3. PARTIE EXPERIMENTALE

3.1. Présentation de la publication n°1

Impact de la dénutrition et de la qualité lipidique de différentes formules de renutrition sur la composition en acides gras (AG) et les marqueurs du statut inflammatoire dans les tissus du rat âgé.

Impact of denutrition and lipid quality for rapid restoration of tissue fatty-acids and inflammatory FA markers in old rats

Ould-Hamouda H, Delplanque B*, Rosique C, Tassistro V, Bonhomme C, Le Ruyet P, Taouis M, Martin JC.

NMPA, CNPS, Université Paris Sud, 91405 Orsay, France ; INRA 1260, Université Aix-Marseille, 13385, Marseille France ; Lactalis Nutrition Santé, Torcé, France.

*corresponding author

Soumis pour publication à Plefa

3. PARTIE EXPERIMENTALE

Résumé de l'étude 1

La dénutrition est très fréquente chez les personnes âgées et elle est associée à de nombreuses pathologies et constitue un facteur majeur de fragilité. Elle s'accompagne d'une baisse de la qualité

de vie, d'un risque accru de comorbidités, d'hospitalisation, d'où majoration des coûts des soins de santé. Des recherches sur des stratégies nutritionnelles, ou l'utilisation de nutriments spécifiques visant à prévenir ou à limiter la dénutrition, sont en cours de développement. La nutrition, notamment la qualité des graisses ingérées, est bien connue pour avoir un impact sur la composition en AG du cerveau. Les apports en AGPI n-3 (précurseur (ALA) et longues chaînes-n-3 (DHA)), sont essentiels à chaque étape de la vie: pour le développement précoce du cerveau, l'apprentissage, au cours du vieillissement et des pathologies associées (Barcelo-Coblijn, 2009; recommandations Issfal, 2004,2008). Le statut de malnutrition est souvent associé à des carences en protéines et en lipides de type omega3. Ces carences pourraient être restaurées par des corrections nutritionnelles spécifiques.

Au cours de cette étude, nous avons évalué l'impact de la dénutrition et la qualité lipidique des aliments de renutrition sur la composition en acides gras (AG) du plasma, des globules rouges (GR), du cerveau et sur les marqueurs du statut inflammatoire chez des rats âgés dénutris. Pour ce faire, nous avons utilisé des rats mâles Wistar âgés de 20 mois. Ces derniers, ont été nourris ad-libitum pendant 12 semaines avec un régime standard (groupe Control C) (4% de lipides de type huile de soja (8% ALA et 53% LA), 74% de glucides du saccharose et de l'amidon de maïs et 14% de protéines de caséine, complété par des vitamines et de minéraux standards). Pour les besoins de l'étude, les rats ont été soumis pendant 12 semaines à une restriction alimentaire de 50% utilisant la même composition en acides gras que celle du régime standard (groupe D) afin de mimer la dénutrition. A la fin de la restriction alimentaire, 4 groupes ont été réalimentés ad-libitum pendant 4 semaines avec soit:

- Un régime standard (groupe RF1) similaire au groupe C (régime témoin) contenant 14% de caséine et de 6% d'huile de soja (8% ALA et 53% LA) (par rapport à 4% dans le groupe C) et de vitamine D à (1UI/g).
- Un régime similaire à celui du groupe de RF1 (groupe RF2) contenant les mêmes lipides (6% d'huile de soja) et même niveau de vitamine D (1UI/g), où la caséine a été remplacée par les protéines solubles du lait (MSP).
- Un régime similaire à celui du groupe de RF1 (groupe RF3) en terme de quantité et de qualité de protéine (14% de caséine) et de vitamine D à (1UI/g), mais où l'huile de

3. PARTIE EXPERIMENTALE

soja a été remplacée par un mélange de 6% de matières grasses laitières et de colza (50/50) apportant 4.9% d'ALA et 10% de AL, additionné de 0,072 g de DHA (oméga-3 à longue chaîne).

- Un régime apportant la formule complète (groupe RFF4) contenant un niveau accru de protéine soluble du lait (22% vs 14% dans les groupes RF1, 2, 3) au détriment de saccharose (18% vs 26%), avec toujours 6% de lipides sous forme du mélange de matières grasses laitières et de colza (50/50), additionné de 0,072 g de DHA (comme dans le groupe RF3), complété par 5UI / g de vitamine D (au lieu de 1UI /g).

Les résultats montrent 1/que la restriction alimentaire de trois mois, bien que non totalement carencée en ALA, induit une perte importante en omega3 (ALA et dérivés LCn-3) alors que le dérivé ARA de la série n-6 est peu modifié, conduisant ainsi à une élévation du statut pro-inflammatoire exprimé sous forme d'une augmentation du ratio ARA/LCn-3 ; 2/ que quatre semaines de réalimentation avec la formule RF3 contenant le mélange matière grasse laitière, colza et DHA, associé à de la caséine ou des protéines solubles du lait, restaure (i) les valeurs de DHA du cerveau non restaurées par le régime RF1 contrôle (ii) augmente les valeurs plasmatiques et GR des dérivés LCn-3 (EPA, DHA) à des niveaux supérieurs à ceux d'un régime contrôle (RF1) de renutrition et à celles observées chez des rats âgés contrôles (C) non dénutris. Cette augmentation s'accompagne d'une réduction importante des valeurs d'ARA, induisant une baisse drastique dans le plasma et les GR du ratio ARA/EPA, un des marqueurs du statut pro-inflammatoire.

Ces formules peuvent donc induire une réduction très importante du statut inflammatoire par rapport à celui observé généralement chez les vieux rats et pourrait donc présenter un intérêt beaucoup plus général en prévention des pathologies associées au vieillissement, liées ou non à la dénutrition.

Denutrition and lipid quality for a rapid fatty acid restoration of tissues: impact on fatty acid inflammatory markers in old rats

H. Ould-Hamouda^a, B. Delplanque^{a*}, C. Rosique^b, V. Tassistro^b, C. Bonhomme^c, P. Le Ruyet^c, M. Taouis^a, J.C. Martin^b

^aNMPA, CNPS, Université Paris Sud, 91405 Orsay, France ;

^bINRA 1260, Université Aix-Marseille, 13385, Marseille France ;

^cLactalis Nutrition Santé, Torcé, France

key words: Old rats, Denutrition, Dairy fat, α -linolenic acid, Docosahexaenoic acid (DHA), Arachidonic acid (AA), Long-Chain-3 (LCn-3), AA/LCn-3, Milk soluble proteins, Plasma, red blood cells (RBC), Brain.

Abbreviations: FA: fatty acid, DHA: docosahexaenoic acid, AA: arachidonic acid, ALA: alpha-linolenic acid, LA: linoleic acid, EPA: eicosapentaenoic acid, DPA: docosapentaenoic acid, PUFA: polyunsaturated fatty acids.

*Corresponding author. tel 33 6 84 54 55 40; 33 1 69 00 81 34

email address: Bernadette.delplanque@u-psud.fr (B. Delplanque)

ABSTRACT 150 Plefa

Denutrition in elderly, associated to n-3FA and protein deficiency, is also associated to increase mortality. Our objective was to evaluate the impact of four-week-refeeding formulas containing a blend of dairy-fat/rapeseed/DHA associated with milk soluble proteins, on plasma, RBC and brain FA in a model of 3month-restricted-old-rats and its consequences on FA markers of the inflammatory status.

The dietary restriction induced n-3FA loss and a rise of the FA pro-inflammatory ratio AA/LCn-3.

The four-week-refeeding formulas containing a blend of dairy-fat/rapeseed/DHA associated with casein or milk soluble proteins, restored 1/brain DHA to normal values which were not restored by the control diet (soya); 2/increased LCn-3 (EPA, DHA) to levels far above those of the control refeeding diet and of control rats before denutrition, which, associated with AA reduction, dropped AA/EPA or AA/DHA markers of the pro-inflammatory status in plasma, RBC and brain.

This formula could offer anti-inflammatory benefits against ageing associated to or even prior denutrition.

INTRODUCTION

Aging is a complex biological process that is characterized by the progressive decline of physiological and biochemical properties of individual tissues and organs, leading to senescence and related diseases [1]. Nevertheless, denutrition, in the elderly, is a major health and societal concern as it contributes to increased morbidity and mortality [2, 3]. Furthermore, denutrition contributes to enhanced risk of falls, fractures, infections and blunted response to aggression, which leads to disability and poor quality of life in the elderly [4, 5]. Besides, the malnutrition of elderly is accompanied by several disorders including metabolic dysfunctions especially frailty which characterized by an essential fatty acids (FA) deficiency, in particular n-3 [6-9], and constitutes a major factor of decreased muscle mass [10-12], alteration of insulin responsiveness [13] and immune response deficiency [14, 15].

Considering these alarming data and the rising number of elderly people, there is an urgent need to find a way to limit or avoid malnutrition among them [16-18]. **Thus, the nutritional manipulation**, during aging, is considered to be a solution to prevent these disorders and limit damages [19-21].

Among the nutrients that have been widely studied, the quality of **proteins** or amino acids like leucine and citrulline showed that they modulate muscle function in malnourished aged rats [22, 23]. For example, whey proteins result in higher muscle protein synthesis as compared to soy proteins [24] and this has been attributed to the fact that soy proteins are preferentially directed towards splanchnic synthesis as compared to whey proteins [25]. The new processing of native whey protein prepared by microfiltration of skimmed milk fully maintains the nutritional and functional capacities of milk proteins [26].

Another nutrient that have been largely studied is lipid quality and particularly n-3 PUFA as fish oil; indeed, supplementing diet with fish oil Long Chain n-3 (LCn-3) FA or oleate-enriched diet, improves insulin sensitivity [27, 28], reduced pro-inflammatory factors as IL6, due in part to the anti-oxidative actions of LCn-3 [29-33] and restores muscle protein synthesis in old rats [34]. It is now accepted that chronic inflammation is a major underlying condition of many age-related diseases, such as atherosclerosis, arthritis, cancer, diabetes, osteoporosis, dementia, vascular diseases, obesity and metabolic syndrome [35]. The dietary intake of fish oils containing LCn-3 such as eicosapentaenoic (EPA; 20:5n-3) and docosahexaenoic (DHA; 22:6n-3) FA decreases the plasma concentration of blood lipids including cholesterol and triacylglycerol [36]. The benefit of CLn-3 has been attributed to both EPA and DHA [37]. In addition, LCn-3 could increase, to some extent, bleeding time or erythrocyte deformability [38] and decrease platelet aggregation [39], blood viscosity, and fibrinogen [40], thus decreasing the tendency to thrombus formation. They, therefore, have a positive impact on diseases such as hypertension [41], arthritis [42], atherosclerosis [43], myocardial infarction [44], thrombosis [45], and some cancers [46].

A recent study showed that cognitive impairment in aging population is related to the decrease erythrocytes **n-3/n-6 ratio** [47]; moreover, nutritional excess of linoleic acid (LA) is related to the decline in cognitive performances [48] and the increased oxidative stress in aging, has been attributed to a decrease in protection against free radicals, thus inducing a decrease in n-3 FA in nerve structures. In contrast, a diet enriched in EPA could have anti-oxidant properties that help to fight against the effects of aging [49,50]. Some studies have shown that spatial learning capacity is altered in n-3 deficient old rodents [6-9], while LCn-3 supplementation (fish oil) improves learning in old rats [51, 52] and in rodent models of Alzheimer's disease [53, 54].

LCn-3 are not the only n-3 FA impacting these metabolic disorders: **ALA** the n-3 precursor of LCn-3 could be efficiently converted to LCn-3 depending of the FA environmental conditions. The LA/ALA ratio has been recognized as an important factor driving the bioconversion of ALA into LCn-3 [55-57] because of the competition between the parent n-3 and n-6 fatty acids for desaturation and elongation pathways [58]. Variability in dietary n-6/n-3FA (LA/ALA) has been demonstrating of importance [37, 59, 60].

An increase in dietary ALA as well as the LA/ALA ratio, decreasing from 10 to 6 or less, in the same fat matrix could promote the bioconversion to LCn-3 [61]. An illustration could be the comparison of dietary oils like rapeseed or soya oils, containing similar levels of ALA but very different in terms of

LA. Rapeseed is considered as a mono-unsaturated oil while soya is a poly-unsaturated one, rich in LA and so, presenting a totally different LA/ALA ratio (10 vs 2or3). In this particular case we can speculate that dietary use of rapeseed could be more favorable for a better bioconversion to LCn-3.

Arachidonic acid (AA), the LA desaturation product is a precursor of pro-inflammatory eicosanoids, at least for most of them [62-64]. AA is more stable and less or negatively dependant of its precursor LA [62, 65, 66] than could be the LCn-3; But this is still controversial [57].

It has been shown that utilization of fish oil in patients with cardiovascular diseases, induced a reduction of the plasma ratio AA/EPA which was associated with a reduction of inflammation [67]. Some other studies showed that an increase intake of EPA+DHA induced a reduction of AA/EPA+DHA in RBC [68]. So far, utilisation of AA/ Lcn-3 (EPA and/or DHA) ratio has been used as a FA pro-inflammatory marker [62].

Recently, a **reappraisal of the impact of dairy** foods and milk fat on cardiovascular disease risk has been published: no consistent association between consumption of milk fat and the increase in cardiovascular risks has been proved [69]. Furthermore dairy foods could be associated with insulin sensitivity [21, 27] but not with atherosclerosis [70]. Short-term buttermilk consumption has also been shown to reduce blood pressure in normotensive individuals [71]. Indeed, despite its high content in saturated fatty acids, milk fat has been reported to improve inflammation and to reduce central obesity [72]. Due to its diversity and complexity, dairy fat needs further consideration. It is characterized by a very complex composition and shows, for example, a high proportion of saturated fat, including short and medium chains. However, the short- or medium-chain FA in milk fat are more efficiently absorbed and might be beneficial for health [73]. Some studies reported the beneficial impact of dairy products on the bioconversion of ALA in humans or animal studies [74, 75]. In a totally different context, some others have shown that infants fed formulas based on dairy fats [76, 77] or evaporated milk [78] have LCPUFA status midway between those fed formulas enriched with vegetable oils and those fed breast milk, indicating a better bioconversion compared to pure vegetable oil formulas. Some micronutriments like **vitamin D**, despite its classical effects on bone and calcium metabolism, displays a wide spectrum of effects: those targeting the cardiovascular system [79]. Regular consumption of vitamin D rich food, is protective against the onset of dementia in older adults. It is also a neurosteroid hormone essential to neurophysiological function (regulation of neurotransmitters and neurotrophins) with anti-inflammatory and antioxidant neuroprotective action. As such, vitamin D enhances the efficacy of memantine in terms of neuronal protection and prevention of cognitive decline in Alzheimer's disease [80-85]. An additional intake of vitamin D, in older people, has been shown to significantly improve muscle function and physical performance [86-89].

Despite the absolute necessity of nutritional studies on humans to evaluate the impact of denutrition and how to improve recovery, some studies on animals models, by mimicking the denutrition status of elderly could help to evaluate the best refeeding strategies, by using different combinations of natural intake of protein, fat (quantity and quality) as well as micronutrients (vitamin D).

In the present work, after a FA tissues evaluation of denutrition in old rats, we assessed the impact of refeeding with classical diets used for animal and a nutritional combination between milk soluble proteins and lipids associated with n-3FA (ALA precursor from rapeseed, supplemented with DHA from algae) and vitamin D, on the restoration of the FA profiles of the plasma, red blood cells (RBC) and brain of old malnourished rats and its consequences on FA markers of inflammatory status.

Thus, old Wistar rats (20 month old) were submitted to food restriction (-50%) during 12 weeks in order to mimic malnutrition. The duration of food restriction was chosen according to previous reports [88]. Following food restriction, animals were re-fed with different nutritional combinations during 4 weeks. We have compared control diet (soya oil/casein semi-synthetic equivalent to chow diet) to diets where milk soluble proteins replaced casein or where a blend of dairy fat/rapeseed/DHA replaced soya oil, or both, with a specific increased level of proteins, in the presence of high vitamin D concentration.

MATERIALS AND METHODS

Animals and experimental design

All procedures were conducted according to the guidelines of laboratory animal care and were approved by the local governmental commission for animal research: Ethic Committee for animal experimentation of PARIS Center and South# 59 (FRANCE), with authorization # 91-519.

Male Wistar rats aged 20 months were purchased from Janvier (Le Genest-St-Isle, France). They were housed individually in controlled temperature (20–22°C) and hygrometry (around 40%) in a 12 h light: 12 h darkness cycle. They had free access to water.

Dietary composition. Table 1A, 1B

During the adaptation period (first 2 weeks) all rats were fed ad libitum with a control semi-synthetic diet using, 4% soya oil as lipids to mimic the soya meal used for animal pellets, 74% carbohydrates from sucrose and cornstarch and 14% proteins from casein, supplemented with standard vitamins and mineral mix), following classical recommendations

A control group was maintained ad libitum for 3 months receiving a control semi-synthetic diet similar to the adaptation diet (**C group**) with a daily spontaneous intake of 24.5 ± 0.8 g/d (n=6), and then was sacrificed (**Figure1**).

A dietary restriction program was applied to other animals and maintained for 3 months with an intake at 50% of the ad libitum diet (12g/d, same composition) proposed every morning to the animals (**fig. 1**). At the end of the diet restriction period, rats (23 month-old) were separated: one group was sacrificed as a denutrition group (**D group**, n=6) and the others were separated in four groups for refeeding study (**RF1, 2, 3, 4 groups** n=6 per group).

These four re-feeding groups were assessed in order to compare the capacity of FA restoration on plasma, RBC and brain of the refeeding diets differing by their protein quality (casein or specific milk soluble proteins) or protein content (14% or 22%), associated to different lipid quality (soya oil or a blend of milk fat/ rapeseed oil 50/50 enriched in DHA (72 mg/100g of diet) and associated to different Vitamin D levels (**table 1A**). All refeeding diets were isocaloric and enriched in lipid compared to the Ad Libitum control period (C group) (6% vs 4%) at the expense of sucrose (26% instead of 28%).

Group 1 (**RF1 group**) was re-fed with a diet similar to the C group (control diet) containing 14% casein as source of proteins and 6% of soya oil as lipids (vs 4% in the C group) and vit D level (1UI/g). Group 2 (**RF2 group**) was re-fed with similar diet as the RF1 group, except that casein was replaced by Milk Soluble Protein (MSP: Prolacta®, Lactalis Ingredients, Bourgbarre, France) with the same lipids (6% soya oil) and vit D level (1UI/g). Group 3 (**RF3 group**) was re-fed with similar diet as RF1 group in terms of protein quantity and quality (14% casein) and vitD, except that soya oil was replaced by a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with 0.072g of DHA/100g of diet. Group 4 was re-fed with a Full Formulae (**RF4 group**) containing an increased level of MSP (22% vs 14% in the other groups) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with 0.072g of DHA (like in the RF3 group), plus 5UI/g of Vit D (instead of 1UI) (**table 1**).

To avoid pathologies of the digestive tract a progressive refeeding from Day1 to Day5 was managed: 20g/d on D1 and D2, 25g/d on D3, 30g/d on D4 and then ad libitum.

Body weights and food intake were daily measured in the re-fed groups and once a week during the denutrition period.

We are very grateful to Lesieur who provided soya and rapeseed oils, DSM who provided DHA (from algae) and to Lactalis who provided soluble milk proteins and milk anhydrous fat. Vit D ??....., all macro / micronutriments and preparation of diets were manufactured by UPAE, Inra, Jouy en Josas, France and we are very grateful to X Blanc who was in charge of fabrication.

Tissue collection. Old rats were killed by decapitation between 8.00 AM h and 11.00 in a fasting state. The blood was collected on heparin (10 IU/ml) cooled on ice, and plasma was separated by 20-min centrifugation (3500 t/mn at 4°C) from red blood cells (RBC) that were rinsed with saline solution (NaCl 0.9%). The brain was promptly removed, placed on an ice-cooled watch glass, rinsed with cold

saline solution (NaCl 0.9%). Tissues were immediately immersed in liquid nitrogen. The plasma, RBC and brains were stored at -80°C for later analysis.

Lipid extraction and fatty acid derivatization into methyl esters.

Brain lipid extraction. Half of one brain was weighed and lyophilized. The samples were then pulverized using a motorized potter for homogenization. A dry weight corresponding to 65 mg of fresh tissue was rehydrated to 80% and extracted with 1.5 ml of hexane/iso-propanol (3/2, v/v) using a protocol from Schwarz E et al [90]. After centrifugation (9500g, 10 min, 4°C), the upper phase (hexane) was recovered and evaporated to dryness under nitrogen. The dry residue was stored under a nitrogen atmosphere at -80°C before fatty acid derivatization.

Red blood cell lipid extraction. Red blood cell lipids were extracted with 1.5 ml of hexane/iso-propanol (3/2, v/v) [90]. After centrifugation (9500 g, 10 min., 4°C), the upper phase (hexane) was recovered and evaporated to dryness under nitrogen. The dry residue was stored under a nitrogen atmosphere at -80°C before derivatization of the component fatty acids into methyl esters.

Derivatization in fatty acid methyl esters. Stock solutions of the reagents were prepared just prior to each experiment. For each brain and red blood cell lipid extraction sample, 1.9 ml of stock solution (1.8 ml of methanol and 100 µl of acetyl chloride) were freshly prepared and added to the dry residue. For plasma, 250 µl of plasma and 1.9 ml of the stock solution were combined in screw-capped glass tubes. The tubes were capped and heated at 100°C for 60 min. The tubes were allowed to cool at room temperature. Hexane (1 ml) was added to the brain and red blood cells samples (distilled water was added elsewhere), and the tubes were vortexed for 30 s. The upper organic phase was collected with a Pasteur pipette. This extraction procedure was repeated to optimize lipid extraction. The combined hexane solutions were dried under a stream of nitrogen, and the dry residue was then re-dissolved in 80 µl (red blood cells sample), 100 µl (plasma sample) or 200 µl (brain sample) of hexane, transferred to GC vials, and capped under nitrogen.

Fatty acid analysis by fast gas chromatography (fast GC). The analysis by fast GC was performed on a 0.5-µl sample injected in split mode with a hydrogen flow rate of 10 ml/min. The column was a capillary column (BP×70, 10 m × 0.1 mm ID × 0.2 µm film thickness) (SGE International Pty. Ltd. Australia). The temperature program was as follows: initial, 60 °C with a 0.5-min hold; ramp, 20°C/min to 200°C, 7°C/min to 225°C with a 1-min hold, and then 160°C/min to 250°C with a 1-min hold. The instrumental conditions were as follows: The carrier gas was H₂ at a flow rate of 61.4 cm/s and a constant head pressure of 206.8 kPa; FID was set at 280°C; the air and nitrogen make-up gas flow rates were 450 ml/min and 45 ml/min, respectively; the injector split ratio was 200:1; the detector sampling frequency was 50 Hz; the autosampler injections had a volume of 0.5 µl; and the run time for a single sample was 13.23 min with a sample injection-to-injection time of 16 min.

Statistical analysis. ANOVA were executed using Statview (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Results

To evaluate the potential of a full formulae containing a mix of high content of soluble milk protein associated to a blend of dairy fat, rapeseed (50/50), supplemented with DHA and enriched in vitD, we used a model of restricted fed old rat, non totally ALA deficient, to mimic the situation of malnourished elderly people. In this paper we focused on fatty acids modifications during denutrition and we aimed to determine which diet components could be of interest to facilitate the FA recovery in old rats which could help to determine which component could be useful for old people diet recommendations for a rapid recovery. *This paper presents only one part of a much larger protocol evaluating the impact on other parameters (...in press)?* To estimate the relative impact of each component: protein and fat quality and/or content on lipids composition of different tissues (plasma, RBC, brain), and to determine which one could be the most beneficial, we associated different changes of lipids (soya equivalent to regular diet vs a blend of milk fat/rapeseed/DHA) and protein quality and quantities (14% of milk soluble proteins vs casein) and proposed a full formula (milk fat/rapeseed/DHA, 22% milk soluble protein) predicted as the most efficient (**table1A**). The first objective was to evaluate in old rats the potential impact on n-3FA of plasma, RBC and brain which are generally deficient in old malnourished people, and how this could interact with other FA, specifically n-6 and its potential pro-inflammatory consequences expressed as ratios of different LCn-6/LCn-3.

Before the food restriction rats showed a body weight of 581.8 ± 12.9 g, and following restriction they lost 104.63 ± 4.3 g. All re-fed groups gain a similar weight independently of their diets with a mean body weight of 623.6 g.

ALA intake during the different periods of the protocol (table1):

The 4% lipid control diet (C) provided 0.08 g/d of ALA, which was reduced to 0.04g/d during the 3month-denutrition period (D) (50% of global intake) and goes up to 0.12g/d during RF1 and RF2 restoration (6% lipids as soya oil) and to 0.07g/d during RF3 and RF4 (6% lipids as dairy-Fat/rapeseed/DHA) restoration periods. The n-6/n-3 (LA/ALA) ratio ranged from 6.6 (C, D, RF1 and RF2) to 2.1 (RF3 and RF4). DHA supplementation was only added to the F3 and F4 diets (0.072mg/100g diet)

1/Denutrition impact: Figures 2-6, supplemented tables 2-3-4,

Plasma, by comparing the FA of D and C groups whose diets differed solely by a 50% reduction of all components (12g/day vs 24g/day of intake), a drastic reduction of plasma n-3 FA was observed: ALA (-34% $p < 0.01$) and LCn-3 derivatives (-22% $p < 0.05$), distributed between EPA, DPA and DHA (respectively -65% $p < 0.002$, -26% $p < 0.019$, -12% ns). Conversely, the n-6 FA, LA and its derived AA (20: 4n-6) were only weakly increased (+4% ns and +8% $p < 0.084$ respectively).

These FA modifications induced a 2.5 fold increase of the FA pro-aggregant, pro-inflammatory ratio expressed as AA/EPA ($p < 0.003$), while the others increased to a lower extend AA/LCn-3 (+37% $p < 0.018$) as well as AA/DHA (+22% $p < 0.078$).

RBC the modifications were similar but not as important as those observed in the plasma: a reduction of the levels of n-3FA: ALA (-18%ns) and LCn-3 derivatives (-16% $p < 0.009$), distributed between EPA, DPA and DHA (respectively -23% $p < 0.052$, -17% $p < 0.023$, -14% $p < 0.054$). Conversely in the n-6 FA, LA was not significantly modified (-10%) while AA was increased (+9% $p < 0.002$)

These modifications induced, as in plasma, some increase of the FA pro-aggregant, pro-inflammatory ratios expressed as AA/LCn-3 (+24% $p < 0.001$), AA/EPA (+42% $p < 0.063$) as well as AA/DHA (+20% $p < 0.002$).

Brain, a reduction of LCn-3 (-20% $p < 0.011$) was observed, distributed between DPA and DHA (-11% $p < 0.057$, -20% $p < 0.012$ respectively) while LA and ARA were not modified. Finally the ratios AA/LCn-3 and AA/DHA were increased significantly by 11% and 12% ($p < 0.019$ for each)

2/Comparison of different refeeding capacity of diets to restore tissues FA.

Plasma, RBC and brain of 4 animal groups ($n=6$) receiving refeeding diets for one month and differing by their protein quality or content, associated to different lipid quality and to different Vit D levels (table2) were studied.

2a: Restoration of FA levels after one month refeeding with lipids similar to the control diet C (RF1).

Refeeding capacity of a diet similar to the control normal diet (C), except that the content of fat as soya oil was increased to 6% instead of 4%, was evaluated, first by a comparison with tissue FA composition at the end of the denutrition period (**RF1 vs D group**) and then to the control group before denutrition (**RF1 vs C group**).

Plasma: Clearly, by using a control soya diet (RF1), a recovery was observed showing an increase in n-3FA, ALA, EPA and DPA (respectively, +35% ns +147% $p < 0.007$ and +19% $p < 0.022$) initially reduced by denutrition, except DHA levels which were kept even lower (-12% ns) than those *obtained at the end of the denutrition period*, while AA which was slightly increased by denutrition, was reduced drastically (-25% $p < 0.001$). Compared to the denutrition phase, these modifications induced an important reduction of the inflammatory markers expressed as the AA/EPA (-67% $p < 0.003$), and to a smaller extent AA/LCn-3 or AA/DHA ratios (-23% $p < 0.051$, -14% ns respectively).

- Finally, ALA, EPA and DPA levels did not differ from *the pre-denutrition status* while, surprisingly ARA, DHA and LCn-3 were still reduced significantly (-18% $p < 0.007$, -22% $p < 0.026$, -17% $p < 0.09$). However, with these concomitant reductions of LC n-6 and n-3, the AA/LCn-3 or AA/DHA ratios were kept comparable to the control status before denutrition.

RBC Compared to *the denutrition group*, FA composition after refeeding with a diet similar to the pre-denutrition control diet showed a small non significant increase in total LCn-3 (+9% ns) distributed between ALA, EPA and DPA (+25% ns, +55% $p < 0.034$, +20% $p < 0.056$) while DHA was not modified (-2.5% ns). AA previously increased by denutrition, was reduced (-6% $p < 0.015$). As in the plasma, these modifications induced an important reduction of the inflammatory markers expressed as the AA/EPA (-36% $p < 0.041$), and AA/LCn-3 (-10% $p < 0.049$) but not with the ratios including only DHA (AA/DHA ns).

Finally, after refeeding with a soya diet and compared to the pre-denutrition control group, ALA and DPAn-3 recovered the initial values, while EPA was slightly increased (+16% ns), but DHA and LCn-3 were still reduced significantly (respectively -16% $p < 0.002$, -8% $p < 0.042$). Since AA was not different from the control group, the FA pro-inflammatory ratios AA/LCn-3 or AA/DHA ratios were increased compared to the control before denutrition (respectively +23% $p < 0.001$, +12% $p < 0.012$), while the AA/EPA ratio came back to normal pre-denutrition values.

Brain After refeeding with a diet similar to the pre-denutrition control diet, DHA was slightly increased (10% $p < 0.06$) and AA was not significantly changed as compared to *the denutrition*

group, so that, compared to the control *pre-denutrition* group, DHA was still maintained reduced by -12% ($p < 0.036$), by consuming soya oil as dietary lipids. AA/DHA ratio slightly recovered compared to the denutrition period (-5%) but did not reach the pre denutrition status (+6%)

2b: Restoration of FA levels after one month refeeding with a lipid formula containing a blend of milk-fat/rapeseed/DHA

This diet was identical to the refeeding RF1 diet in terms of protein (14% casein) and vitD, except in the lipid composition.

The milk-fat/rapeseed (50/50) supplemented with DHA lipids, compared to the soya lipids (**Table 1B**) differed in many components despite the same daily intake (1.5g lipids/d). First the level of ALA was reduced by 40% (0.07 vs 0.12g/d) due to the mix of rapeseed oil and milk fat (9.6% and 0.4% of total fat FA respectively) compared to the 8% of pure soya oil. The level of LA was reduced by 6 since soya is an LA-rich oil (60%), contrarily to 20% for rapeseed and 2.4% for milk fat. The diet level of oleic acid (18:1n-9) was almost twice the levels of soya (24%), since rapeseed is a mono-unsaturated oil (61%) mixed with milk fat (24%). Finally the LA/ALA ratio differed from 6.6 for soya and 2.1 for the blend (2.1 for both rapeseed and milk fat). DHA consumed per day was 0.02 g/d for the blend but absent from soya oil.

The interest of milk fat was also the presence of saturated short and medium chains FA totally absent from vegetable oil (0.18g/ per day including myristic acid 0.09g/d).

These major differences between the refeeding control and blend diets were reflected in the FA tissues: (i) oleic acid levels were x2 in plasma (from 9% to 18%), increased by 50% in RBC (from 6% to 9.5%); (ii) LA levels were reduced by 30% in plasma (from 19% to 12%), by 20% in RBC (from 8.7% to 6.9%) and by 25% in the brain (from 0.67% to 0.5%). ALA was also modified, but not as expected, considering the lower levels introduced by the blend diet: a two fold increase in the plasma (from 0.5% to 1.1%), by 50% in RBC (from 0.1% to 0.15%) and no change in the brain (0.06%). Finally this induced a reduction of LA/ALA ratios in the tissues of the RF3 blended group compared to the RF1 soya refeed group: a two fold decrease in plasma (17 vs 39), -35% with RBC (47 vs 75) and -20% with the brain (9 vs 11).

Another interesting impact of the milk fat blend was an increase in tissue myristic acid, (absent from the refeeding RF1 soya diet): +50% in plasma, +16% in RBC and +16% brain (from 0.1 to 0.3% of total FA depending on tissues)

As with the RF1 diet the refeeding capacity of this RF3 blended diet on n-3 and n-6 was evaluated, first by a comparison with tissue FA composition: at the end of the denutrition period (**RF3 vs D group**), at the end of the refeeding control diet (**RF3 vs RF1 group**) and then to the control group before denutrition (**RF3 vs C group**).

Plasma First, compared to the denutrition period (D), using a blend of milk-fat/rapeseed/DHA (RF3) a recovery was observed by a large increase of 82% all the n-3 FA (ALA +97% $p < 0.000$; EPA +800% $p < 0.000$; DPA +67% $p < 0.000$, DHA +32% $p < 0.004$) and conversely n-6 LA and AA were reduced (-34% $p < 0.01$, -35% $p < 0.000$ respectively). This induced a drastic reduction of the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-63% $p < 0.000$; -93% $p < 0.000$; -52% $p < 0.000$).

Compared to the soya refeeding phase (control RF1), the blend induced an increase of 71% ($p < 0.000$) of all n-3 FA (ALA +46% ns; EPA +264% $p < 0.000$; DPA +40% $p < 0.000$, DHA +50% $p < 0.000$) and conversely n-6 LA and AA were reduced (-42% $p < 0.01$, -14% ns respectively). This conducted to a reduction of the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-53% $p < 0.000$; -79% $p < 0.015$; -44% $p < 0.002$).

Surprisingly, compared to the control pre-denutrition phase (C), the blend induced also a further increase of all n-3 FA +42% ($p < 0.001$) distributed between ALA +30% ($p < 0.058$), EPA +211% ($p < 0.000$), DPA +23% ($p < 0.037$) and DHA +17% ($p < 0.034$). Conversely n-6 LA and AA were reduced (-31% $p < 0.02$, -30% $p < 0.02$ respectively). A significant reduction of the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-52% $p < 0.002$; -78% $p < 0.004$; -41% $p < 0.001$).

RBC First, compared to the denutrition period (D), using a blend of milk-fat/rapessed/DHA (RF3) a recovery was observed by an increase of 48% ($p < 0.001$) of all the n-3 FA (ALA +59% $p < 0.000$; EPA +414% $p < 0.000$; DPA +43% $p < 0.001$, DHA +24% ($p < 0.062$)) and conversely n-6 LA and AA were reduced (-12% ns, -15% $p < 0.000$ respectively). This induced a reduction of the the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-40% $p < 0.000$; -83% $p < 0.001$; -25% $p < 0.002$).

Compared to the RF1 soya refeeding phase, using a blend of milk-fat/rapessed/DHA (RF3) a 35% ($p < 0.005$) increase of all the n-3 FA was observed (ALA +27% $p < 0.046$, EPA +232% $p < 0.000$, DPA +20% $p < 0.018$, DHA +27% ($p < 0.016$)) and conversely n-6 LA and AA were reduced (-22% $p < 0.005$, -9% $p < 0.001$ respectively). This induced a further reduction of the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-37% $p < 0.000$; -73% $p < 0.000$; -27% $p < 0.001$).

Compared to the control pre-denutrition phase (C), the blend RF3 induced also a further +24% ($p < 0.001$) increase of all LCn-3 FA (ALA +30% $p < 0.053$; EPA +297% $p < 0.000$; DPA +18% $p < 0.008$, DHA +6% ns) and conversely n-6 LA and AA were reduced (-20% $p < 0.011$, -71% $p < 0.007$ respectively), which induced a significant reduction of the AA/LCn-3, AA/EPA or AA/DHA ratios (-24% $p < 0.000$; -76% $p < 0.000$; -10% ns) compared to the old control animals before denutrition.

Brain

First, compared to the denutrition period (D), using a blend of milk-fat/rapessed/DHA (RF3), contrarily to RF1 (soya) which showed a further decrease, a recovery was observed with RF3 by an increase of 19% ($p < 0.032$) all the LCn-3 FA (DPA +14% $p < 0.033$, DHA +19% ($p < 0.035$)) and conversely n-6 LA was reduced, but not AA (-18% $p < 0.028$, -3% ns respectively). This induced a reduction of the AA/DHA ratios (-13% $p < 0.009$).

Compared to the RF1 soya refeeding phase, using the RF3 blend of milk-fat/rapessed/DHA an increase was observed of DHA (+9% $p < 0.029$) and conversely n-6 LA was (-14% $p < 0.086$) and AA not modified. This induced a reduction of the AA/DHA ratios (-8% $p < 0.012$). Oleic acid was not modified.

More interesting the RF3 diet compared to the control pre-denutrition phase (C) showed similar levels of DPA and DHA, while n-6 LA was reduced (-19% $p < 0.035$) and AA not modified as well as the ratio AA/LCn-3 or AA/DHA ratios.

2c: Impact of milk soluble protein (MSP) compared to casein: RF2 vs RF1

Milk Soluble Protein (RF2) was compared to the casein Control group (RF1) classically used in animal pellet, with the same content of proteins (14%) and the same lipid (6% soya oil) and vit D level (1UI/g).

Plasma FA did not differ significantly whatever was the protein diet: casein or milk soluble proteins, except AA which increased with milk soluble proteins (+24% $p < 0.014$) and was kept comparable to denutrition or control values, while DHA was not modified significantly (+7%), nor the AA/LCn-3 ratio.

RBC seemed to be more sensitive to the protein differences: LCn-3 decreased as well as DHA with the milk soluble proteins (-9% $p < 0.095$, -14% $p < 0.016$ respectively) and AA was not modified. Finally the ratio AA/DHA was increased non significantly by 15% ($p < 0.069$).

Brain FA composition was not modified by the change of protein quality with this diet containing 6% fat as soya oil.

2d: Impact of the MSP protein quantity, 22% vs 14% : RF4 vs RF3

Full Formulae (**RF4 group**) containing an increased level of MSP (22% vs 14% casein or MSP in the RF1, 2, 3 groups) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with the 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with 0.072g of DHA plus 5UI/g of Vit D (instead of 1UI/) was compared to the RF3, differing only by the level and quality of protein (casein 14%).

Compared to RF3 the RF4 diet induced no major changes in plasma FA except a reduction of Oleic acid (-22% $p < 0.09$) and ALA (-29% $p < 0.09$) and a non significant increase of DHA and AA (+12%, +10% $p < 0.09$).

In RBC an increase of DHA and AA was also noticed (+5%, +8% ns) as well as a reduction of oleic acid and ALA (-7%, -10% $p < 0.057$).

In the brain an increase of DHA and AA (+6%, +7% $p < 0.09$) and a reduction of oleic acid was observed (-4% $p < 0.005$). These differences in LC were not significant but very repetitive in each tissue.

These simultaneous increases of LCn-6 and LCn-3 associated to the increased levels in dietary MSP, did not modified the different FA pro-inflammatory ratios (AA/LCn-3, AA/EPA, AA/DHA).

The increased quantity of milk soluble protein at the expense of carbo-hydrates (RF4 vs RF3) which induced a further increase of LC n6 and n-3, finally, did not impaired the benefit of the reduced pro-inflammatory status observed with the blend of dairy fat/rapeseed/DHA alone

Discussion

In the present work we aimed to analyze the impact of different diets, that differed in their compositions in terms of proteins and fat quality, on tissues FA in old malnourished Wistar rats. A special focus was given to the combination of milk soluble proteins and milk lipids.

To mimic malnutrition, we have subjected old rats (20 months) to food restriction (50%) during 12 weeks and this led, as expected, to a significant reduction of body weight accompanied with different changes in FA.

Denutrition. Despite a dietary ALA level not totally deficient, the denutrition phase induced specific and drastic modifications of ALA and LCn-3 while almost no modifications were observed on LCn-6 (AA). This induced a large FA pro-inflammatory increase expressed differently in the different studied tissues: a high increase of the AA/EPA for plasma and RBC and to a lower extent an increase of AA/DHA for the brain plasma and RBC.

Modifications differed with tissues, the plasma being the most reactive while RBC maintained lower modifications and the brain was only slightly modified.

The denutrition impact on FA of the studied organs could explain that some diseases like cardiovascular or neurological pathologies are associated to malnutrition via an increase inflammation.

Renutrition

The lipid composition of refeeding diets were quite different in terms of FA quality as mentioned previously, and impact consequently and specifically DHA, Oleic acid and LA in tissues, related to control (soya) or to the blend of milk fat/rapeseed/DHA diet content. However, ALA levels were an exception since they are increased in tissues with the blend of milk fat/rapeseed despite a lower intake compared to soya control diet.

The control diet (RF1 soya) characterized by an increase of ALA intake (6% lipids vs 4%), induces a recovery to normal levels for ALA and LCn-3 which are increased to the pre-denutrition level by the 1month-refeeding, except DHA values which were maintained not

different (or even reduced) of those observed at the end of the denutrition phase. AA was still stable or return to the pre-denutrition values, so that the AA/EPA pro-inflammatory ratio did not differ from the pre denutrition phase except for the AA/DHA in RBC and Brain which were still higher.

Interestingly, the brain DHA, which was moderately reduced by a 3-month-denutrition diet, not totally depleted in ALA, seems to need probably more than 1 month to recover despite the 50% ALA enrichment of the control diet. This may be linked to the large excess of LA in soya which present a LA/ALA ratio not low enough to accelerate the bioconversion to DHA. These brain modifications are quite questionable since the brain is known to be well preserved against deficiency, but the counterpart seems to be that it needs also more time or more drastic nutritional intake (preformed DHA) to be restored at normal values.

Recovery of RBC is apparently lower than those observed in plasma, probably linked to the renewal time necessary for these cells.

The blend milk fat/rapeseed/DHA diet (RF3) compared to the control diet is characterized by higher levels of oleic acid, lower levels of ALA, lower level of LA but a lower protective LA/ALA ratio and supplementation by preformed DHA

First, these modifications were validated by a reduction in terms of LA and an increase of oleic acid (OL) which could be attributed essentially to intake of rapeseed vs soya

The most interesting result was the increase of DHA levels in all tissues compared to the pre-denutrition control animals (except the brain) which could be explained by the addition of preformed DHA to the diet. The brain, a very strictly FA regulated organ did not show an increase higher than the control but recovered to normal control levels within these 4 weeks of refeeding, regulation which was not obtained with the higher ALA level of the soya diet (RF1). Furthermore DHA increased to higher levels than controls in plasma and RBC, indicating that this supplementation could be beneficial in old animals, without any metabolic disease, associated or not to a pre-denutrition phase or n-3 deprivation. This indicates also that preformed LCn-3 as DHA should be added for a rapid recovery, at least of the brain, preferentially to an increase in ALA when the proper low ratio could not be proposed (RF1 soya). The utilization of ALA introduced via a diet providing a proper (lower) ratio should deserve further investigations. It has been reported that the reversal of DHA in the n-3 deficient rat brain takes more time than in plasma (8 weeks vs 2 weeks), when animals were fed very low levels of n-3 for 2 generations [91]. However in our study the situation of these animals was quite different in that their brain DHA depletion was much less important, due to the duration and the mild conditions of depletion.

EPA and DPA were also increased in plasma and RBC: this could result from the retroconversion of added preformed DHA, but also from an increase conversion of ALA which could be attributed to the better (lower) LA/ALA ratio introduced by the simultaneous utilization of rapeseed and milk fat presenting the same ratio (2.3 instead of 6.6 for soya). This is a possible explanation despite the lower intake of ALA from this diet (0.07g/daily instead of 0.12g/d for soya refeeding diet).

Furthermore the levels of ALA, despite these lower intake compared to control refeeding or pre-denutrition phase (0.07g/d vs 0.12g/d and 0.08g/d respectively), were found higher in plasma and RBC of animals receiving the blend diets (between +30/40% and +17/60% depending of the tissues and diets). It is known that the conversion of ALA to EPA is not limited, contrarily to DHA which is more regulated. So, it could be proposed that the levels of ALA, despite this low intake and its better conversion to higher levels of EPA, could be preserved of oxidation. The contents in of short- and medium-chain fatty acids of milk fat could be the explanation. ALA is one of the best beta-oxidation substrates [92], whose activity can prevent its conversion into very LCPUFA. Short-chain fatty acids, such as those found in dairy fats, are also highly oxidized after absorption [93, 94], may thereby spare ALA from oxidation, and favor ALA partitioning towards the desaturation and elongation pathways, or just preserve it (inducing an increase ALA level in the corresponding tissue).

The possible sparing of ALA from beta-oxidation by short-chain fatty acids is a plausible explanation for our observation and has already been proposed (77).

AA reductions in plasma and RBC could be ascribed to the presence of preformed DHA in the diet and has already been reported (68, 95). This is also an important benefit from this blend diet, since AA is known as a precursor of pro-inflammatory metabolites contrarily to n-3 which are precursors of anti-inflammatory metabolites. AA (63, 64) is involved in initiation and resolution of inflammation and its level is dependant of n-6/n-3 intake, as well as are the LCn-3. The decreased levels of LA, generally negatively associated to AA levels (95) could not be involved in our study. These AA modifications could present a very positive impact on inflammation.

AA levels are quite stable and not significantly modified in the brain

RBC modifications are interesting in that they represent a useful index of dietary FA on brain (96-97). So, our results in this animal model well recognized for brain studies mimicking modifications of brain FA in humans (98, 99) should be of interest and could be applicable to humans. We can expect that RBC modifications could give an idea of the human brain FA modulation by dietary changes proposed in this study

The drastic reductions of the pro-inflammatory AA/ EPA or /DHA or /LCn-3 ratios, depending on tissues, add a serious benefit to these formulas, not only by increasing the n-3, but reducing AA and re-equilibrating the FA inflammation risk associated to denutrition as well as the risk associated to “normal” ageing situation prior to any denutrition.

The role of proteins is not as clear and was not expecting to play a role on FA modifications. However for some reasons which need to be further explored, an increase of milk soluble proteins content (22% vs 14%), and not the milk soluble protein by itself, induced some liminar, but repetitive increases in LCn-3 and LCn-6 in tissues. This seems to be associated to a reduction of oleic acid, for some unknown reason (despite the same intake). Oleic is a substrate for Delta6 desaturase, competing with n-6 and n-3 families, and a lower level could induce a redistribution of Delta6-desaturase activity towards n-6 and n-3FA. It seems that this redistribution was similarly expressed as in the RF3 diet, since both AA and DHA were increased and the AA/DHA ratios were maintained equivalent.

Finally the last formula, with increased level of MSP, impact positively the restoration of DHA, ALA and LC-n3 of brain, plasma and RBC at higher levels compared to the soya refeeding diet or to the pre-denutrition control diet. These modifications associated with lower AA levels reduced the FA pro-inflammatory status compared to normal old rats and could represent a general prevention diet against ageing.

Conclusions

Denutrition in old rats, despite an absence of n-3 deficiency, induced a specific loss of n-3 (ALA and Lcn-3) in plasma RBC and brain which are associated to an increase of the FA inflammatory markers. Recovery was only obtained after refeeding with Dairy fat/rapeseed/DHA but not by soya diets. Our hypothesis is that the simultaneous ALA precursors and LCn-3 increase associated to AA reduction has been obtained by the specific association in the refeeding diet of dairy fat, rapeseed and DHA, which brings short chains FA, a proper LA/ALA ratio and preformed DHA which induced a rapid recovery of brain DHA and reduced drastically the FA pro-inflammatory status in plasma and RBC to much lower levels than control and could offer large benefits against aging associated or not to denutrition.

Funding

This study is supported by a grant from Agence Nationale de la Recherche (ANR, French Agency for Research) (ANR-2010-ALLIA-013-05 PRESAGE).

There is online supplemental material: 3 FA tables

Acknowledgment:

These studies were supported by Agence Nationale de la Recherche (ANR, French Agency for Research) (ANR-2010-ALLIA-013-05 PRESAGE).

We thank all colleagues involved in PRESAGE for their fruitful discussions and comments: S. Walrand, Y. Rolland and D. Séguy. We are thankful to J. Lefebvre for animal care.

This work was partly presented at Issfal 2013, Stockohlm, NO, and at Journées chevreul 2015paris Fr

Author contributions:

HOH performed most experiments and participates in writing the manuscript, BD participate in the experimental design, experiments and interpretation of nutritional data and of tissues FA modifications and wrote the paper, CR and VT participate to the FA analysis, PL and CB provided specific diets, contributed to the experimental design and to the manuscript revision, MT supervised the study and contributed to the manuscript revision, JCM participate to the FA analysis and contributed to the manuscript revision.

References

- [1] E. Kisby, S. G. Kohama, A. Olivas, M. Churchwell, D. Doerge, E. Spangler, R. de Cabo, D.K. Ingram, B. Imhof, G. Bao, Y. W. Kow. Effect of caloric restriction on base excision repair (BER) in the aging rat brain. *Exp Gerontol.* 45(2010) 208–216.
- [2] O. Bouillanne, G. Morineau, C. Dupont, I. Coulombel, JP. Vincent, I. Nicolis, S. Benazeth, L. Cynober, C. Aussel. Geriatric Nutritional Risk Index: a new index for evaluating at-risk elderly medical patients. *Am J Clin Nutr.* 82 (2005) 777-783.
- [3] N. Kagansky, Y. Berner, N. Koren-Morag, L. Perelman, H. Knobler, S. Levy. Poor nutritional habits are predictors of poor outcome in very old hospitalized patients. *Am J Clin Nutr.* 82 (2005) 784- 791.
- [4] P. Capodaglio, EM. Capodaglio, M. Facioli, F. Saibene. Long-term strength training for community-dwelling people over 75: impact on muscle function, functional ability and life style. *Eur J Appl Physiol.* 100 (2007) 535-542.
- [5] CJ. Liu, NK. Latham. Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults. *Cochrane Database Syst Rev.* (2009) CD002759.
- [6] A. Latour, B. Grintal, G. Champeil-Potokar, M. Hennebelle, M. Laviaille, P. Dutar, B. Potier, J-M. Billard, S. Vancassel, I.Denis. Omega-3 fatty acids deficiency aggravates glutamatergic synapse and astroglial aging in the rat hippocampal CA1. *Aging Cell.* 12 (2013) 76-84.
- [7] N. Yamamoto, Y. Okaniwa, S. Mori, M. Nomura, H. Okuyama. Effects of a highlinoleate and a high-alpha-linolenate diet on the learning ability of aged rats. Evidence against an autoxidation- related lipid peroxide theory of aging. *J. Gerontol.* 46 (1991) 17-22.
- [8] M. Umezawa, A. Ohta, H. Tojo, H. Yagi, M. Hosokawa, T. Takeda. Dietary a-linolenate/linoleate balance influences learning and memory in the senescence-accelerated mouse. *Brain Res.* 669(1995) 225-233.
- [9] I. Carrie, M. Smirnova, M. Clement, JD. De, H. Frances, JM. Bourre. Docosahexaenoic acid-rich phospholipid supplementation: effect on behavior, learning ability, and retinal function in control and n-3 polyunsaturated fatty acid deficient old mice. *Nutr. Neurosci.* 5(2002) 43-52.
- [10] C. Guillet, M. Prod'homme, M. Balage, P. Gachon, C. Giraudet, L. Morin, J. Grizard, Y. Boirie. Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans. *FASEB J.* 18 (2004) 1586-7.
- [11] CS. Katsanos, H. Kobayashi, M. Sheffield-Moore, A. Aarsland, RR. Wolfe. Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am J Clin Nutr.* 82 (2005) 1065-73.
- [12] D. Paddon-Jones, M. Sheffield-Moore, XJ. Zhang, E. Volpi, SE. Wolf, A. Aarsland, AA. Ferrando, RR. Wolfe. Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 286 (2004) 321-8.
- [13] M. García-San Frutos, T. Fernández-Agulló, JM. Carrascosa, D. Horrillo, MT. Barrús, E. Oliveros, J. Sierra, M. Ros. Involvement of protein tyrosine phosphatases and inflammation in hypothalamic insulin resistance associated with ageing: effect of caloric restriction. *Mech Ageing Dev.* 133 (2012) 489-497.
- [14] TB. Harris, L. Ferrucci, RP. Tracy, MC. Corti, S. Wacholder, WH. Ettinger. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med.* 106 (1999) 506–512.
- [15] I. Bautmans, R. Njemini, M. Lambert, C. Demanet, T. Mets. Circulating acute phase mediators and skeletal muscle performance in hospitalized geriatric patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 60 (2005) 361–367.

- [16] X. Hebuterne, S. Schneider, JL. Peroux, P. Rampal. Effects of refeeding by cyclic enteral nutrition on body composition: comparative study of elderly and younger patients. *Clin Nutr.* 16 (1997) 283-289.
- [17] WO. Seiler. Clinical pictures of malnutrition in ill elderly subjects. *Nutrition.* 17 (2001) 496-498.
- [18] S. Walrand, C. Chambon-Savanovitch, C. Felgines, J. Chassagne, F. Raul, B. Normand, MC. Farges, B. Beaufrere, MP. Vasson, L. Cynober. Aging: a barrier to renutrition? Nutritional and immunologic evidence in rats. *Am J Clin Nutr.* 72 (2000) 816-824.
- [19] F. Escrivá, ML. Gavete, Y. Fermín, C. Pérez, N. Gallardo, C. Alvarez, A. Andrés, M. Ros, JM. Carrascosa. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J Endocrinol.* 194 (2007) 131-41.
- [20] M. Dangin, C. Guillet, C. Garcia-Rodenas, P. Gachon, C. Bouteloup-Demange, K. Reiffers- Magnani, J. Fauquant, O. Ballèvre, B. Beaufrère. The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *J Physiol.* 549 (2003) 635-44.
- [21] PJ. Nestel, NS. Traznicky, NA. Mellett, G. Wong, DP. De Souza, DL. Tull, CK. Barlow, MT. Grima, PJ. Meikle. Specific plasma lipid classes and phospholipid fatty acids indicative of dairy food consumption associate with insulin sensitivity. *Am J Clin Nutr.* 99 (2014) 46-53.
- [22] C. Faure, A. Raynaud-Simon, A. Ferry, V. Dauge, L. Cynober, C. Aussel, C. Moinard. Leucine and citrulline modulate muscle function in malnourished aged rats. *Amino Acids.* 42 (2012) 1425-33.
- [23] S. Le Plénier, S. Walrand, R. Noirt, L. Cynober, C. Moinard. Effects of leucine and citrulline versus non-essential amino acids on muscle protein synthesis in fasted rat: a common activation pathway? *Amino Acids.* 43 (2012) 1171-8.
- [24] SM. Phillips, JE. Tang, DR. Moore. The role of milk – and soy-based protein in support of muscle synthesis and muscle protein accretion in young and elderly persons. *J Am Coll Nutr.* 28 (2009) 343-354.
- [25] JE. Tang, SM. Phillips. Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 12 (2009) 66-71.
- [26] P. Le Ruyet, P. Le Goer. A native whey protein extract to fight sarcopenia. *NutraFoods.* 9 (2010) 33-37.
- [27] M. Figueras, M. Olivan, S. Busquets, F.J. López-Soriano, M. Josep. Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) Treatment on Insulin Sensitivity in an Animal Model of Diabetes: Improvement of the Inflammatory Status. *Obesity.* 19 (2011) 362–369.
- [28] S. Cardoso, S. Correia, RX. Santos, C. Carvalho, MS. Santos, CR. Oliveira, G. Perry, MA. Smith, X. Zhu, P. Moreira. Insulin is a two-edged knife on the brain. *J Alzheimer Disease.* 18 (2009) 483-507.
- [29] C. Boudrault, RP. Bazinet, DWL. Ma. Experimental models and mechanisms underlying the protective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in Alzheimer's disease. *J. Nutr. Biochem.* 20 (2009) 1-10.
- [30] K. Li, T. Huang, J. Zheng, K. Wu, D. Li. Effect of marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids on C-reactive protein, interleukin 6 and tumor necrosis factor α : a meta-analysis. *PLoS One.* 9 (2014) 88-103.
- [31] M. Taouis, K. Dagou, C. Ster, G. Durand, M. Pinault, J. Delarue. N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 282 (2002) 664-671.
- [32] J. Cancelas, PG. Prieto, ML. Villanueva-Penacarrillo, Y. Zhang, L. Portois, A. Sener, YA. Carpentier, I. Valverde, WJ. Malaisse. Glucose intolerance, associated to insulin resistance and increased insulin secretion in rats depleted in long-chain omega3 fatty acids. *Horm metab Res.* 39 (2007) 823-5.

- [33] SM. Hirabara, A. Folador, J. Fiamoncini, RH. Lambertucci, CF. Rodrigues, MS. Rocha, J. Aikawa, RK. Yamazaki, AR. Martins, AC. Rodrigues, AR. Carpinelli, TC. Pithon-Curi, LC. Fernandes, R. Gorrão, R. Curi. Fish oil supplementation for two generations increases insulin sensitivity in rats. *J Nutr Biochem.* 24 (2013) 1136-45.
- [34] N. Tardif, J. Salles, JF Landrier, I. Mothe-Satney, C. Guillet, C. Boue-Vaysse, L. Combaret, C. Giraudet, V. Patrac, J. Bertrand-Michel, C. Migné, JM. Chardigny, Y. Boirie, S. Walrand. Oleate-enriched diet improves insulin sensitivity and restores muscle protein synthesis in old rats. *Clin Nutr.* 30 (2011) 799-806.
- [35] BP. Yu, HY. Chung. Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mech Ageing Dev.* 127 (2006) 436-443.
- [36] S. Ikemoto, M. Takahashi, N. Tsunoda. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils. *Metab Clin Exp.* 45 (1996) 1539-1546.
- [37] JR. Hibbeln, LR. Nieminen, TL. Blasbalg, JA. Riggs, WE Lands. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. *Am J Clin Nutr.* 83 (2006) S1483-93.
- [38] JM. Pöschl, C. Leray, R. Groscolas, P. Ruef, O. Linderkamp. Dietary docosahexaenoic acid improves red blood cell deformability in rats. *Thromb Res.* 81 (1996) 283-288.
- [39] S. Nomura, S. Kanazawa, S. Fukuhara. Effects of eicosapentaenoic acid on platelet activation markers and cell adhesion molecules in hyperlipidemic patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complicat.* 17 (2003) 153-159.
- [40] H. Nobukata, T. Ishikawa, M. Obata, Y. Shibutani. Long-term administration of highly purified eicosapentaenoic acid ethyl ester improves the dysfunction of vascular endothelial and smooth muscle cells in male WBN/Kob rats. *Metab Clin Exp.* 49 (2000) 1588-1591.
- [41] D. UN. Long-chain polyunsaturated fatty acids interact with nitric oxide, superoxide anion, and transforming growth factor-beta to prevent human essential hypertension. *Eur J Clin Nutr.* 58 (2004) 195-203.
- [42] MJ. James, SM. Proudman, LG. Cleland. Dietary n-3 fats as adjunctive therapy in a prototypic inflammatory disease: issues and obstacles for use in rheumatoid arthritis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 68 (2003) 399-405.
- [43] A. Steinmetz. Treatment of diabetic dyslipoproteinemia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 111 (2003) 239-245.
- [44] C. Yosefy, JR. Viskoper, A. Laszt. The effect of fish oil on hypertension, plasma lipids and hemostasis in hypertensive, obese, dyslipidemic patients with and without diabetes mellitus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 61 (1999) 83-87.
- [45] RJ. Woodman, TA. Mori, V. Burke. Effects of purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on platelet, fibrinolytic and vascular function in hypertensive type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis.* 166 (2003) 85-93.
- [46] AW. Moses, C. Slater, T. Preston, MD. Barber, KC. Fearon. Reduced total energy expenditure and physical activity in cachectic patients with pancreatic cancer can be modulated by an energy and protein dense oral supplement enriched with n-3 fatty acids. *Br J Cancer.* 90 (2004) 996-1002.
- [47] B. Heude, P. Ducimetière, C. Berr. Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes--The EVA Study. *Am J Clin Nutr.* 77(2003) 803-8.
- [48] S. Kalmijn, EJ. Feskens, LJ. Launer, D. Kromhout. Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and cognitive function in very old men. *Am J Epidemiol.* 145 (1997) 33-41.
- [49] DS. Martin, P. Spencer, DF. Horrobin, MA. Lynch. Long-term potentiation in aged rats is restored when the age-related decrease in polyunsaturated fatty acid concentration is reversed. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 67 (2002) 121-30.

- 50] C. Feart, E. Peuchant, L. Letenneur, P. Bbarberger Gateau. Plasma eicosapentaenoic acid is inverszly associated with severity of depressive symptomatology in the elderly: data from the Bordeaux sample of the Three-City Study. *Am J Clin Nutr.* 87 (2008) 1156-62
- [51] S. Gamoh, M. Hashimoto, S. Hossain, S. Masumura. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 28 (2001) 266–270.
- [52] L. Kelly, B. Grehan, AD. Chiesa, SM. O'Mara, E. Downer, G. Sahyoun, KA. Massey, A. Nicolaou, MA. Lynch. The polyunsaturated fatty acids, EPA and DPA exert a protective effect in the hippocampus of the aged rat. *Neurobiol. Aging.* 32 (2010) 2311-2315.
- [53] F. Calon, GP. Lim, F. Yang, T. Morihara, B. Teter, O. Ubeda, P. Rostaing, A. Triller, N. Salem, KH. Ashe, SA. Frautschy, GM. Cole. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron.* 43 (2004) 633-645.
- [54] M. Hashimoto, R. Tozawa, M. Katakura, H. Shahdat, AM. Haque, Y. Tanabe, S. Gamoh, O. Shido. Protective effects of prescription n-3 fatty acids against impairment of spatial cognitive learning ability in amyloid β -infused rats. *Food Funct.* 2 (2011) 386-94.
- [55] PL. Goyens, ME. Spilken, PL. Zock, MB. Katan, RP. Mensik. Conversion of alpha linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *Am J Clin Nutr.* 86 (2006) 44-53.
- [56] A. Liou, DJ King, D. Zibrik, SM Innis. Decreasing linoleic acid with constant alpha linolenic acid in dietary fats increases (n-3) polyunsaturated fatty acids in plasma phospholipids in healthy men. *J Nut.* 137 (2007) 1-8.
- [57] AP. Simopoulos. The importance of the ratio of omega6/omega3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother.* 56 (2002) 365-79.
- [58] H. Mohrhauer, R.T. Holman. The Effect of Dose Level of Essential Fatty Acids Upon Fatty Acid Composition of the Rat Liver. *J Lipid Res.* 4 (1963) 151-159.
- [59] GL. Russo. Dietary n-6 abs n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol.* 77 (2009) 937-45
- [60] H. Okuyama, Y. Ishikawa, Y. Sun, T. Hamazaki, WE. Lands. Omega 3 Fatty acids effectively prevent coronary heart disease and other late onset of diseases: the excessive lileic acid syndrome. *World Rev Ntr Diet.* 96 (2007) 83-103
- [61] ANSES. – saisine no 2006-SA-0359 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. 2010.
- [62] WE. Lands, M. Inoue, Y. Sugiuria, H. okuyama. Selective incorporation of polyunsatutated fatty acids into phosphatidylcholine by rat liver microsomes. *J Biol Chem.* 257 (1982) 14968-72
- [63] BS. Basavarajappa, RA. Nixon, O. Arancio. Endocannabinoid system: emerging role from neurodevelopment to neurodegeneration. *Mini Rev Med Chem.* 9 (2009) 448-62.
- [64] CN. Serhan, N. Chiang, TE. Van Dyke. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol.* 8 (2008) 349-61.
- [65] A. Liou, SM. Innis. Dietary linoleic has no effect on arachidonic acid, but increases n-6 eicosadienoic acid, and lowers dihommo-gamma-linolenic and eicosapentaenoic acid in plasma of adult men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 80 (2009) 201-6.
- [66] O. Adam, G. Wolfram, N. Zollner. Influence of dietary linoleic acid intake with different fat intake on arachidonic acid concentrations in plasma and platelet lipid and eicosaenoids in female volunteers. *Ann Nutr Metab.* 47 (2003) 31-6
- [67] VD. De Mello, AT. Erkkila, US. Schwab, L. Pulkkinen et al. The effect of fatty or lean fish intake on inflammatory gene expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with coronary heart disease. *Eur J Nutr.* 48 (2009) 447-55

- [68] RW. Friesen, SM. Innis, Dietary arachidonic acid to EPA and DHA balance is increased among Canadian pregnant women with low fish intake. *J Nutr.* 139 (2009) 2344-50
- [69] J.B German, R.A. Gibson, R.M. Krauss, P. Nestel, B. Lamarche, W.A. Staveren, J.M. Steijns, L.C. de Groot, A.L. Lock, F. Destailats. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur J Nutr.* 48 (2009) 191-203
- [70] D. Mozaffarian, M.C de Oliveira Otto, R.N Lemaitre, A. M Fretts, G. Hotamisligil, M. Y Tsai, D.S. Siscovick, J. A. Nettleton. Trans-Palmitoleic acid, other dairy fat biomarkers, and incident diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)1-3. *Am J Clin Nutr.* 97 (2013) 854-61.
- [71] V. Conway, P. Couture M.D, S. Gauthier, Y. Pouliot, B. Lamarche. Effect of buttermilk consumption on blood pressure in moderately hypercholesterolemic men and women. *Nutrition.* 30 (2014) 116-119
- [72] S. Holmberg, A. Thelin. High dairy fat intake related to less central obesity: A male cohort study with 12 years ' follow-up. *Scand J Prim Health Care.* 31 (2013) 89-94.
- [73] A.C. Bach, V.K. Babayan. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr.* 36 (1982) 950-952.
- [74] J.M. Naughton, A.J. Sinclair, K. O'Dea, M.S. Steel. Effects of dietary butter enrichment on the fatty acid distribution of phospholipid fractions isolated from rat platelets and aortae. *Biochim Biophys Acta.* 962 (1988) 166-172.
- [75] V. Rioux, D. Catheline, M. Bouriel, P. Legrand. Dietary myristic acid at physiologically relevant levels increases the tissue content of C20:5 n-3 and C20:3 n-6 in the rat. *Reprod Nutr Dev.* 45 (2005) 599-612.
- [76] T.A. Sanders, D.J. Naismith. A comparison of the influence of breast-feeding and bottle-feeding on the fatty acid composition of the erythrocytes *Br J Nutr* 41 (1979) 619-623).
- [77] Q. Du, J.C. Martin, G. Agnani, N. Pages, P. Le Ruyet, P. Carayon, B. Delplanque. Dairy fat blends high in α -linolenic acid are superior to n-3 fatty acid-enriched palm oil blends for increasing DHA levels in the brains of young rats. *J Nutr Biochem.* 23 (2012) 1573-82.
- [78] M.L. Courage, U.R. McCloy, G.R. Herzberg, W.L Andrews, B.S. Simmons, A.C. McDonald, C.N. Mercer, J.K. Friel. Visual acuity development and fatty acid composition of erythrocytes in full-term infants fed breast milk, commercial formula, or evaporated milk. *J Dev Behav Pediatr.* 9 (1998) 9-17
- [79] L. Wang, JE. Manson, Y. Song, HD. Sesso. Systematic review: Vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events. *Ann. Intern. Med.* 152 (2010) 315-323.
- [80] JS. Buell, B. Dawson-Hughes, TM. Scott. 25-Hydroxyvitamin D, dementia, and cerebrovascular pathology in elders receiving home services. *Neurology.* 74 (2010) 18-26.
- [81] C. Annweiler, AM. Schott, Y. Rolland, H. Blain, FR. Herrmann, O. Beauchet. Dietary intake of vitamin D and cognition in older women: a large population-based study. *Neurology.* 75 (2010a) 1810-1816.
- [82] C. Annweiler, AM. Schott, G. Allali. Association of vitamin D deficiency with cognitive impairment in older women: crosssectional study. *Neurology.* 74 (2010b) 27-32.
- [83] T. Etgen, D. Sander, H. Bickel, K. Sander, H. Förstl. Vitamin D deficiency, cognitive impairment and dementia: a systematic review and meta-analysis. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 33 (2012) 297-305.
- [84] C. Annweiler, Y. Rolland, AM. Schott, H. Blain, B. Vellas, O. Beauchet. Serum vitamin D deficiency as a predictor of incident non-Alzheimer dementias: a 7-year longitudinal study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 32 (2011)273-278.

- [85] C. Annweiler, DJ. Llewellyn, O. Beauchet. Low serum vitamin D concentrations in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Alzheimers Dis.* 33 (2013) 659-674.
- [86] PH. Haran, DA. Rivas, RA. Fielding. Role and potential mechanisms of anabolic resistance in sarcopenia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.* 3 (2012) 157-162.
- [87] JE. Morley. Nutrition and the aging male. *Clin Geriatr Med.* 26 (2010) 287-299.
- [88] S. Walrand, C. Chambon-Savanovitch, C. Felgines, J. Chassagne, F. Raul, B. Normand, MC. Farges, B. Beaufriere, MP. Vasson, L. Cynober. Aging: a barrier to renutrition? Nutritional and immunologic evidence in rats. *Am J Clin Nutr.* 72 (2000) 816-824
- [89] H. Wang, A. Listrat, B. Meunier, M. Gueugneau, C. Coudy-Gandilhon, L. Combaret, D. Taillandier, C. Polge, D. Attaix, C. Lethias, K. Lee, KL. Goh, D. Béchet. Apoptosis in capillary endothelial cells in ageing skeletal muscle. *Aging. Cell* (2013).
- [90] E. Schwarz, S. Prabakaran, P. Whitfield, H. Major, F.M. Leweke, D. Koethe, et al. High throughput lipidomic profiling of schizophrenia and bipolar disorder brain tissue reveals alterations of free fatty acids, phosphatidylcholines, and ceramides. *J Proteome Res.* 7 (2008) 266-277.
- [91] T. Moriguchi, J. Loewke, M. Garrison, JN. Catalan, N Jr. Salem. Reversal of docosahexaenoic acid deficiency in the rat brain, retina, liver, and serum. *J Lipid Res.* 42 (2001) 419-27.
- [92] P.J. Jones. Dietary linoleic, alpha-linolenic and oleic acids are oxidized at similar rates in rats fed a diet containing these acids in equal proportions. *Lipids.* 29 (1994) 491-495.
- [93] V. Rolland, S. Roseau S, G. Fromentin, S. Nicolaidis, D. Tome, P.C. Even. Body weight, body composition, and energy metabolism in lean and obese Zucker rats fed soybean oil or butter. *Am J Clin Nutr.* 75 (2002) 21-30.
- [94] H. Bendixen, A. Flint, A. Raben, C.E. Hoy, H. Mu, X. Xu, et al. Effect of 3 modified fats and a conventional fat on appetite, energy intake, energy expenditure, and substrate oxidation in healthy men. *Am J Clin Nutr.* 75 (2002) 47-56.
- [95] RW. Friesen, SM. Innis, Linoleic acid is associated with lower Long-chain n-6 and n-3 fatty acids in red blood cell lipids in Canadian pregnant women. *Am J Clin Nutr.* 91 (2010) 23-31
- [96] SE. Carlson, JD Carver, SG House. High fat diets varying in ratios of polyunsaturated to saturated fatty acid and linoleic to linolenic: a comparison of rat neural and red cell membrans phospholipids. *J Nutr.* 116 (1986) 718-25
- [97] GR. Ward, YS. Huang, E. Bobik, HC. Xing, L. Mutsaers, N. Auestad, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acid levels in formulae influence deposition of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in brain and red blood cells of artificially reared neonatal rats. *J Nutr.* 128 (1998) 2473-87.
- [98] J.M. Bourre, M. Piciotti, O. Dumont, J.C. Pascal, G. Durand. Dietary linoleic acid and PUFA in rat brains and other organs. Minimal requirements of linoleic acid. *Lipids.* 25 (1990) 465-472.
- [99] P. Guesnet, J.M Alessandri. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations. *Biochimie.* 93 (2011) 7-12

Legendes

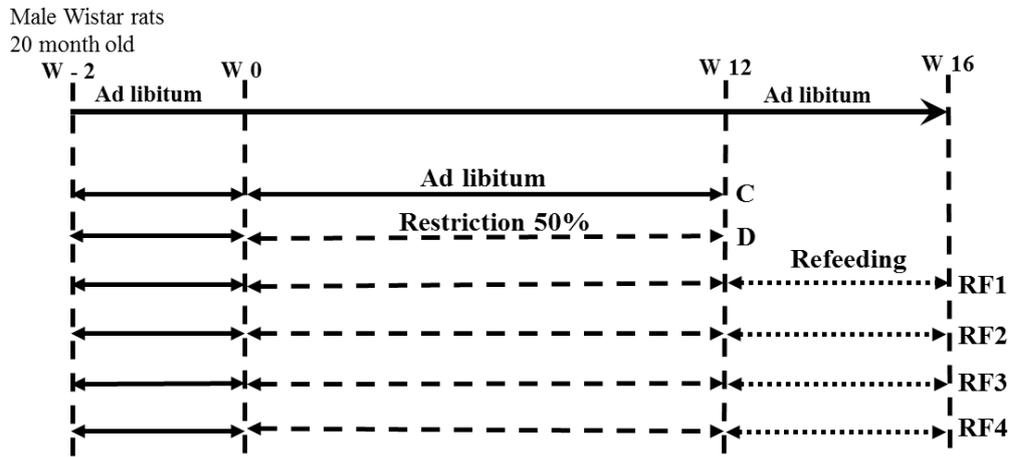


Fig 1: Food restriction and re-feeding protocol for old Wistar rats.

Figure 1

Food restriction and re-feeding protocol for old Wistar rats. Old Wistar rats (20 month old) were fed during two weeks with control semi-synthetic diet and then divided into 6 groups. One group was maintained under same control diet (C, Control group) for 3 months (24g/d): 14% protein, 74% carbohydrate and 4% lipids (soya oil: 8% ALA-18:3n-3, 53% LA-18:2n-6). All other groups were food restricted during 12 weeks (D, Denutrition group) with control diet C limited to 50% of ad libitum consumption (12g/d vs 24g/d). The C and D groups were sacrificed at week 12 whereas the remaining groups were re-fed with different diets during 4 weeks before sacrifice: RF1, RF2, RF3 and RF4 groups. RF1: re-fed with a control diet containing 14% casein as source of proteins, with 6% of the same lipid (soya oil) and vit D level (1UI/g); RF2: re-fed with similar diet as C except that casein was replaced by milk-soluble-protein with the same lipid (6% soya oil) and vit D level (1UI/g); RF3 : re-fed with similar diet as C in terms of protein quantity and quality (14% casein) and vitD, except that soya oil was replaced by a 6% blend of dairy-fat/rapeseed (50/50) supplemented with DHA (4.9% ALA, 10% LA, +0.072g /100g diet of DHA); RF4: re-fed with a full formulae similar to F3 except that casein was replaced by an increased level of milk soluble protein (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), containing the same 6% blend of milk-fat /rapeseed /DHA, and an increased level of vit D (5UI/g instead of 1UI/g).

		C	Restriction (12 weeks)	Refeeding (4 weeks)			
			D	RF1	RF2	RF3	RF4
PROTEINS (G)	CASEIN MILK SOLUBLE PROTEINS	14	14	14	0	14	0
		0	0	0	14	0	22
FATS (G)	SOYA	4	4	6	6	0	0
	MILK FATS	0	0	0	0	3	3
	RAPESEED	0	0	0	0	3	3
	DHA	0	0	0	0	0,072	0,072
CARBOHYDRATES	SUCROSE	28	28	26	26	26	18
	CORNSTARCH	46	46	46	46	46	46
	CELLULOSE	4	4	4	4	4	4
VITAMIN	VIT D UI/G	1	1	1	1	1	5
4% Mineral Mix + Standard Vitamin							
TOTAL (G)		100	100	100	100	100	100

Table 1A : Composition of diets (g/100g diet)

		Lipids and FA g/day			
Total Dietary Intake	25 g/d	12 g/d	25 g/d	25 g/d	
LIPIDS	C	D	RF1, RF2	RF3, RF4	
	1g	0,5g	1,5g	1,5g	
	Soya	Soya	Soya	Dairy-Fat/Rapessed	
C14:0				0,09	
C18:1w9 cis	0,24	0,12	0,36	0,61	
C18:2	0,53	0,26	0,79	0,16	
C18:3	0,08	0,04	0,12	0,07	
18:2/18:3	6,56	6,56	6,56	2,11	
C18:2 CLA	0	0	0	0,01	
DHA	0	0	0	0,02	

Table1B : Dietary fatty acid composition of diets (daily intake g/day)

Fatty Acids	Plasma Fatty Acids					
	C	D	RF1	RF2	RF3	RF4
C14: 0	0,20 ± 0,02 ^{bc}	0,18 ± 0,02 ^b	0,25 ± 0,03 ^c	0,20 ± 0,01 ^{bc}	0,33 ± 0,01 ^a	0,30 ± 0,03 ^{ac}
C18: 1n-9	9,43 ± 0,73 ^a	9,21 ± 0,76 ^a	12,38 ± 0,26 ^{ab}	9,12 ± 0,88 ^a	18,73 ± 1,73 ^c	14,06 ± 1,75 ^{cd}
C18: 2n-6	19,05 ± 0,06 ^a	19,83 ± 1,57 ^a	22,47 ± 1,24 ^a	19,34 ± 1,2 ^a	13,13 ± 0,34 ^b	12,17 ± 0,61 ^b
C20: 4n-6	27,43 ± 0,56 ^a	29,69 ± 0,95 ^a	22,35 ± 1,23 ^b	27,7 ± 1,21 ^a	19,16 ± 1,65 ^c	21,55 ± 1,86 ^c
C18: 3n-3	0,56 ± 0,05 ^a	0,37 ± 0,04 ^b	0,50 ± 0,11 ^a	0,54 ± 0,08 ^a	0,72 ± 0,06 ^c	0,52 ± 0,08 ^a
C20: 5n-3	0,70 ± 0,09 ^a	0,24 ± 0,03 ^b	0,59 ± 0,09 ^a	0,57 ± 0,05 ^a	2,16 ± 0,23 ^c	2,41 ± 0,34 ^c
C22: 5n-3	0,82 ± 0,07 ^a	0,61 ± 0,03 ^b	0,72 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,05 ^a	1,01 ± 0,03 ^c	0,85 ± 0,07 ^{ab}
C22: 6n-3	3,79 ± 0,22 ^a	3,34 ± 0,25 ^a	2,94 ± 0,22 ^b	3,15 ± 0,17 ^b	4,42 ± 0,14 ^c	4,82 ± 0,16 ^c
LA/ALA	35,19 ± 2,93 ^b	58,63 ± 4,02 ^a	35,28 ± 3,25 ^b	39,14 ± 6,04 ^b	17,38 ± 1,78 ^c	28,51 ± 5,89 ^{bc}
LC n-3	4,68 ± 0,75 ^b	3,59 ± 0,62 ^b	3,65 ± 0,59 ^b	4,37 ± 0,25 ^b	7,6 ± 0,27 ^a	8,09 ± 0,43 ^a
ARA/LC n-3	5,25 ± 0,43 ^a	13,11 ± 5,92 ^b	5,42 ± 0,39 ^a	6,5 ± 0,31 ^a	2,56 ± 0,27 ^c	2,84 ± 0,52 ^c
ARA/EPA	43,55 ± 9,52 ^a	137,06 ± 20,46 ^b	45,48 ± 12,22 ^a	49,97 ± 5,82 ^a	9,53 ± 1,43 ^c	11,12 ± 3,28 ^c
ARA/DHA	7,36 ± 0,47 ^a	9,02 ± 0,63 ^a	7,62 ± 0,82 ^a	9,08 ± 0,28 ^a	4,35 ± 0,38 ^c	4,71 ± 0,59 ^c

Tab 2: Plasma FA (% total) of control (C), restricted (D) and re-fed old Wistar rats (RF1,RF2, RF3 and RF4)

(C, Control group): for 3months with control diet (24g/d) (14% casein, 74% carbohydrate and 4% soya oil: 8% ALA-18:3n-3, 53% LA-18:2n-6); (D, Denutrition group) with control diet C limited to 50% of ad libitum consumption (12g/d vs 24g/d); RF1: re-fed with a control diet (C); RF2: re-fed with 14% milk-Soluble-Protein and 6% soya oil ; RF3 : re-fed with 14% casein and 6% blend of Dairy-Fat/Rapeseed (50/50)/DHA (4.9% ALA, 10% LA, supplemented with DHA); RF4: re-fed with a full formulae containing milk soluble protein (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with DHA, and 5UI/g of Vit D.

Fatty Acids	RBC Fatty Acids					
	C	D	RF1	RF2	RF3	RF4
C14: 0	0,16 ± 0,01 ^{bd}	0,12 ± 0,01 ^c	0,13 ± 0,01 ^{bc}	0,13 ± 0,01 ^c	0,19 ± 0,01 ^a	0,16 ± 0,01 ^d
C18: 1n-9	6,64 ± 0,27 ^a	6,57 ± 0,14 ^a	7,14 ± 0,17 ^a	6,89 ± 0,22 ^a	9,52 ± 0,36 ^b	8,90 ± 0,33 ^b
C18: 2n-6	8,78 ± 0,40 ^a	7,90 ± 0,47 ^{ab}	8,98 ± 0,37 ^a	9,26 ± 0,15 ^a	6,99 ± 0,41 ^c	6,32 ± 0,36 ^c
C20: 4n-6	27,87 ± 0,34 ^a	30,36 ± 0,46 ^b	28,52 ± 0,37 ^a	27,93 ± 0,42 ^a	25,94 ± 0,45 ^c	27,37 ± 0,95 ^a
C18: 3n-3	0,11 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,005 ^b	0,12 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,005 ^c	0,15 ± 0,005 ^d	0,13 ± 0,004 ^c
C20: 5n-3	0,31 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,03 ^b	0,37 ± 0,04 ^c	0,36 ± 0,03 ^c	1,23 ± 0,13 ^d	1,13 ± 0,11 ^d
C22: 5n-3	3,14 ± 0,08 ^a	2,60 ± 0,19 ^b	3,11 ± 0,15 ^c	3,04 ± 0,12 ^c	3,72 ± 0,16 ^d	3,92 ± 0,24 ^d
C22: 6n-3	3,64 ± 0,10 ^a	3,12 ± 0,22 ^b	3,04 ± 0,11 ^b	2,54 ± 0,14 ^c	3,86 ± 0,27 ^a	4,16 ± 0,14 ^d
LA/ALA	82,57 ± 8,89 ^b	85,26 ± 4,69 ^b	82,12 ± 9,67 ^b	75,13 ± 3,31 ^b	47,11 ± 2,31 ^a	47,11 ± 2,53 ^a
LC n-3	7,10 ± 0,11 ^a	5,96 ± 0,34 ^b	6,53 ± 0,22 ^{ab}	5,93 ± 0,24 ^b	8,82 ± 0,40 ^{cd}	9,22 ± 0,45 ^{cd}
ARA/LC n-3	3,93 ± 0,08 ^a	4,90 ± 0,19 ^b	4,39 ± 0,12 ^c	4,64 ± 0,27 ^b	2,99 ± 0,10 ^d	2,99 ± 0,09 ^d
ARA/EPA	90,83 ± 3,99 ^a	128,66 ± 19,13 ^b	81,87 ± 8,43 ^a	78,09 ± 8,13 ^a	22,21 ± 2,23 ^c	25,57 ± 2,92 ^c
ARA/DHA	7,68 ± 0,24 ^a	9,19 ± 0,25 ^b	9,41 ± 0,28 ^b	10,82 ± 0,67 ^c	6,91 ± 0,44 ^d	6,62 ± 0,34 ^d

Tab 3: RBC FA (% total) of control (C), restricted (D) and re-fed old Wistar rats (RF1,RF2, RF3 and RF4)

RBC: Red Blood Cells; (C, Control group): for 3months with control diet (24g/d) (14% casein, 74% carbohydrate and 4% soya oil: 8% ALA - 18:3n-3, 53% LA-18:2n-6); (D, Denutrition group) with control diet C limited to 50% of ad libitum consumption (12g/d vs 24g/d); RF1: re-fed with a control diet (C); RF2: re-fed with 14% milk-Soluble-Protein and 6% soya oil ; RF3 : re-fed with 14% casein and 6% blend of Dairy-Fat/Rapeseed (50/50)/DHA (4.9% ALA, 10% LA, supplemented with DHA); RF4: re-fed with a full formulae containing milk soluble protein (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with DHA, and 5UI/g of Vit D. Results are expressed as mean ± SEM (n = 6), different letters indicate significant differences with at least p<0.05.

Fatty Acids	Brain Fatty Acids					
	C	D	RF1	RF2	RF3	RF4
C14: 0	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,003	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,003	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01
C18: 1n-9	17,00 ± 0,30 ^a	17,29 ± 0,27 ^{ab}	17,65 ± 0,22 ^{ab}	17,79 ± 0,39 ^{ab}	18,10 ± 0,20 ^b	17,37 ± 0,29 ^{ab}
C18: 2n-6	0,66 ± 0,03 ^a	0,65 ± 0,02 ^a	0,62 ± 0,02 ^a	0,67 ± 0,02 ^a	0,53 ± 0,04 ^b	0,51 ± 0,03 ^{ab}
C20: 4n-6	8,88 ± 0,33	8,36 ± 0,39	8,32 ± 0,22	8,50 ± 0,23	8,11 ± 0,21	8,73 ± 0,26
C18: 3n-3	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,004	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,003
C22: 5n-3	0,32 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,01 ^b	0,31 ± 0,01 ^b	0,33 ± 0,01 ^b	0,31 ± 0,02 ^b
C22: 6n-3	11,37 ± 0,35 ^a	9,06 ± 0,67 ^b	9,93 ± 0,48 ^c	10,05 ± 0,23 ^c	10,8 ± 0,28 ^a	11,41 ± 0,38 ^d
LA/ALA	13,87 ± 1,50 ^a	10,69 ± 1,75 ^{ab}	10,76 ± 0,87 ^{ab}	11,38 ± 1,07 ^{ab}	8,97 ± 0,62 ^b	10,27 ± 0,79 ^b
LC n-3	11,70 ± 0,29 ^a	9,36 ± 0,54 ^c	10,25 ± 0,43 ^{bc}	10,37 ± 0,22 ^{bc}	11,12 ± 0,25 ^{ab}	11,72 ± 0,37 ^a
AA/LC n-3	0,76 ± 0,02 ^b	0,84 ± 0,02 ^a	0,80 ± 0,02 ^{ab}	0,82 ± 0,02 ^a	0,73 ± 0,02 ^b	0,75 ± 0,03 ^b
AA/DHA	0,78 ± 0,02 ^a	0,87 ± 0,02 ^b	0,82 ± 0,03 ^{ab}	0,84 ± 0,02 ^{ab}	0,76 ± 0,02 ^a	0,76 ± 0,03 ^a

Tab 4: Brain FA (% total) of control (C), restricted (D) and re-fed old Wistar rats (RF1,RF2, RF3 and RF4)

(C, Control group): for 3months with control diet (24g/d) (14% casein, 74% carbohydrate and 4% soya oil: 8% ALA-18:3n-3, 53% LA-18:2n-6); (D, Denutrition group) with control diet C limited to 50% of ad libitum consumption (12g/d vs 24g/d); RF1: re-fed with a control diet (C); RF2: re-fed with 14% milk-Soluble-Protein and 6% soya oil; RF3 : re-fed with 14% casein and 6% blend of Dairy-Fat/Rapeseed (50/50)/DHA (4.9% ALA, 10% LA, supplemented with DHA); RF4: re-fed with a full formulae containing milk soluble protein (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with DHA, and 5UI/g of Vit D. Results are expressed as mean ± SEM (n = 6), different letters indicate significant differences with at least p<0.05.

Fig 2: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Plasma and RBC n-3 Fatty Acids

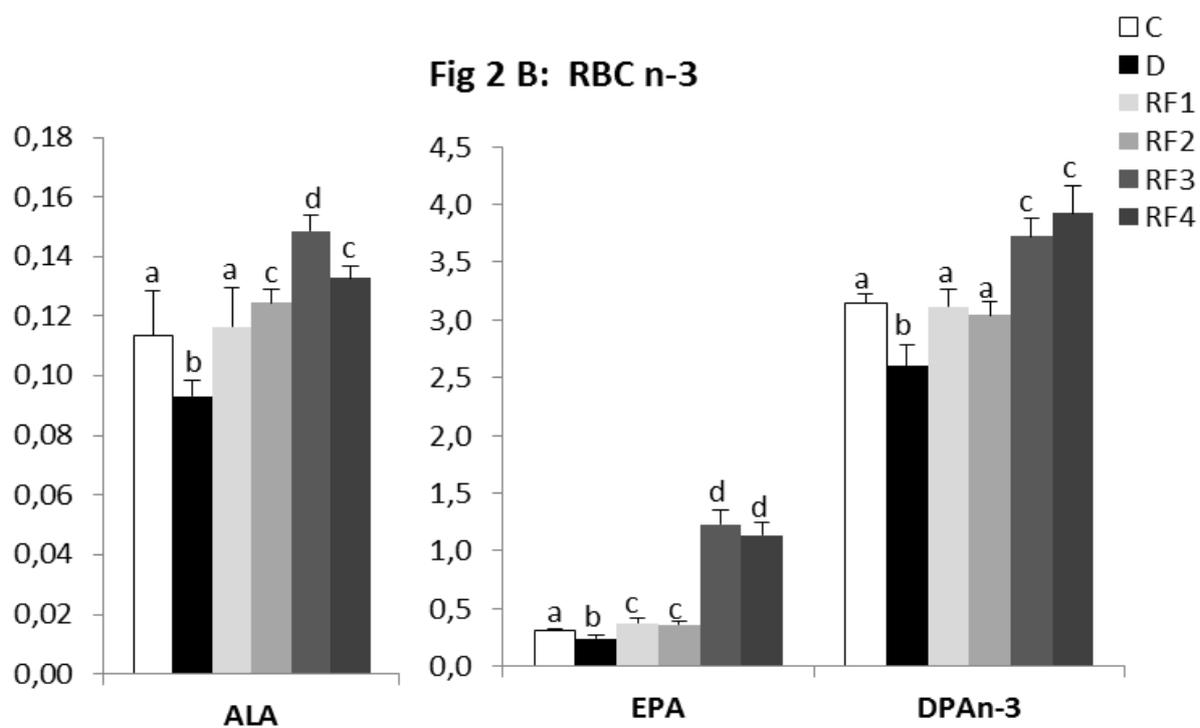
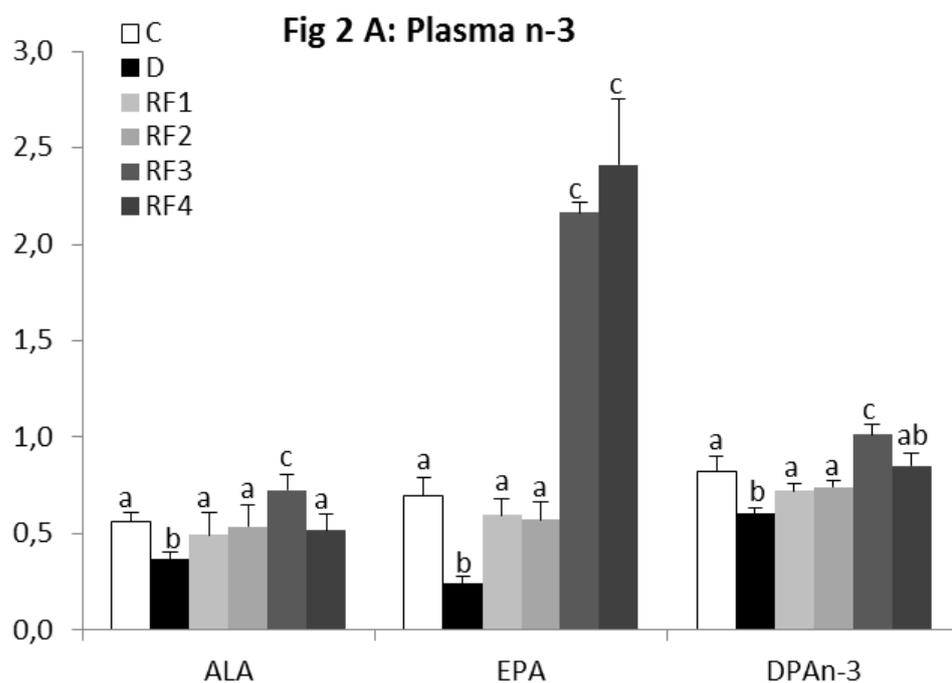


Fig 3: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Plasma , RBC and Brain DHA Fatty Acids.

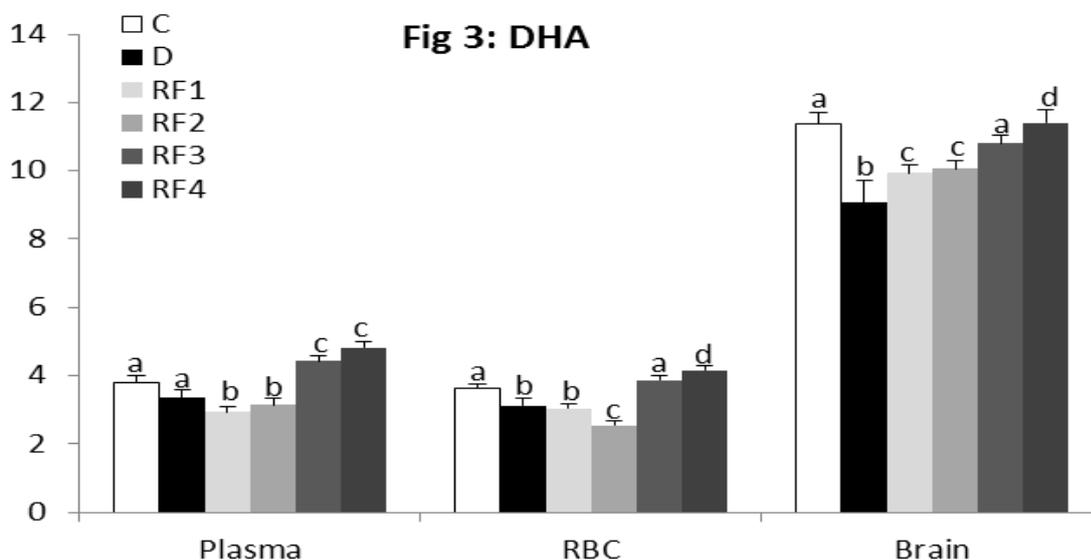


Fig 4: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Plasma , RBC and Brain ARA Fatty Acids

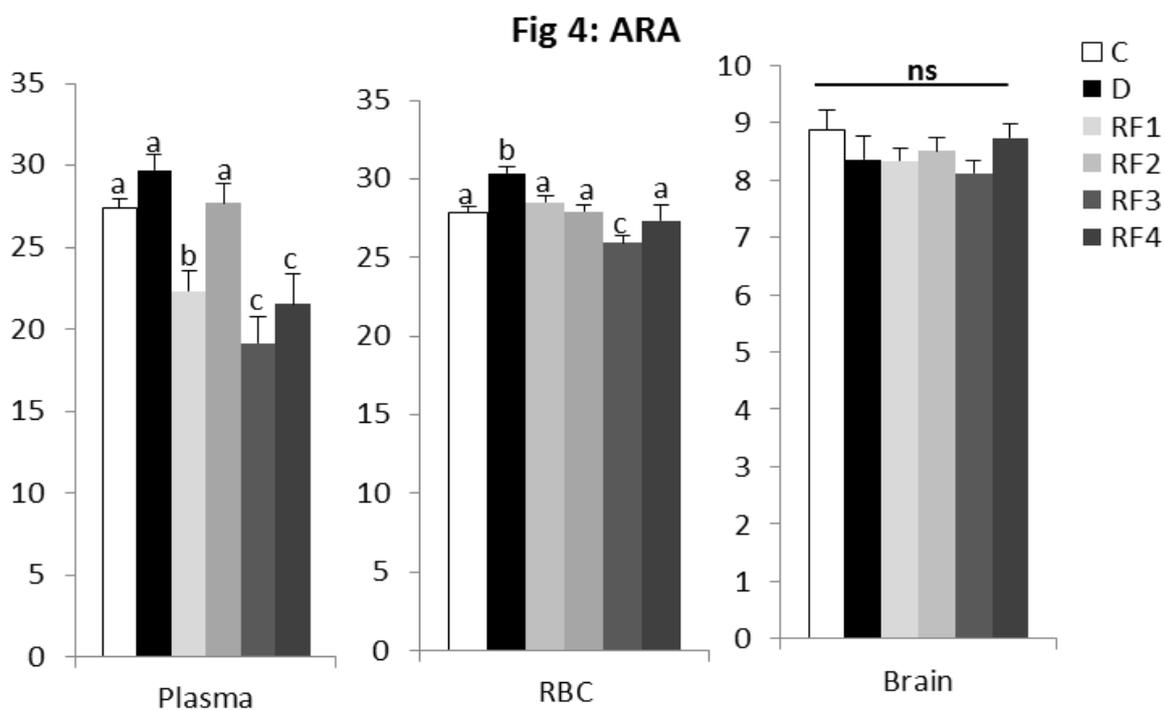


Fig 5A: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Plasma Inflammation Index

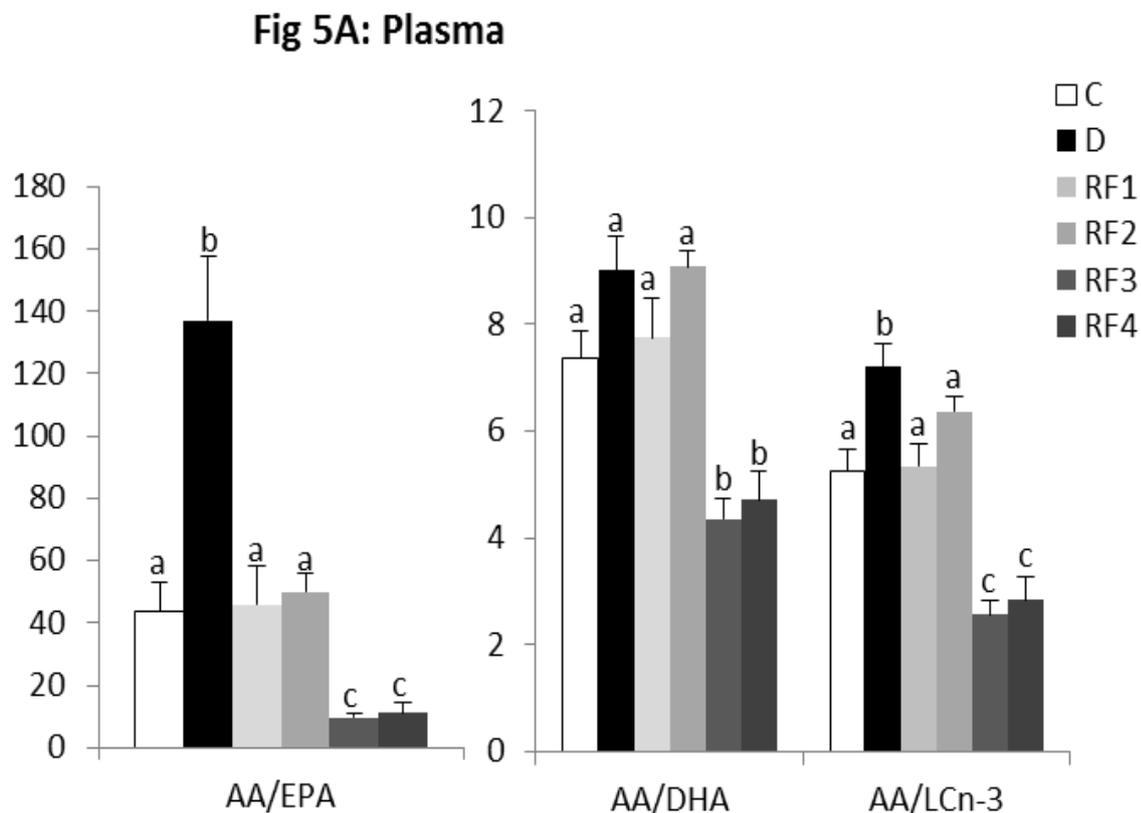


Fig 5B: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on RBC Inflammation Index

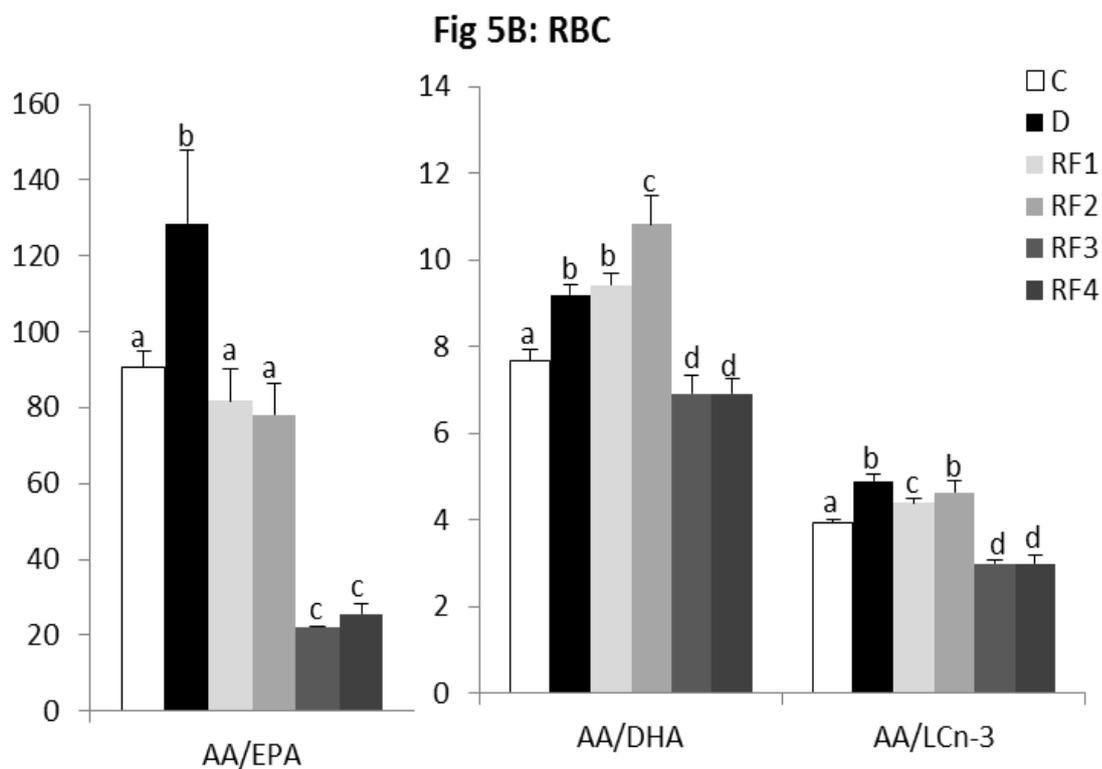


Fig 5C: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Brain Inflammation Index

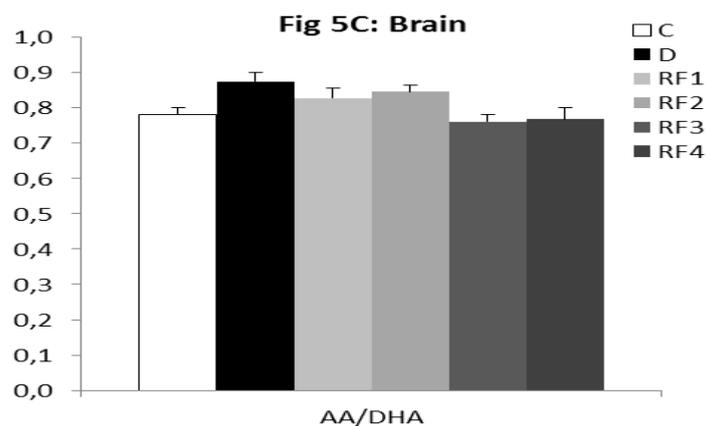


Fig 6: Impact of Denutrition and Refeeding Diet Quality on Oleic (OL) and Linoleic (LA) Acids of Plasma, RBC and Brain

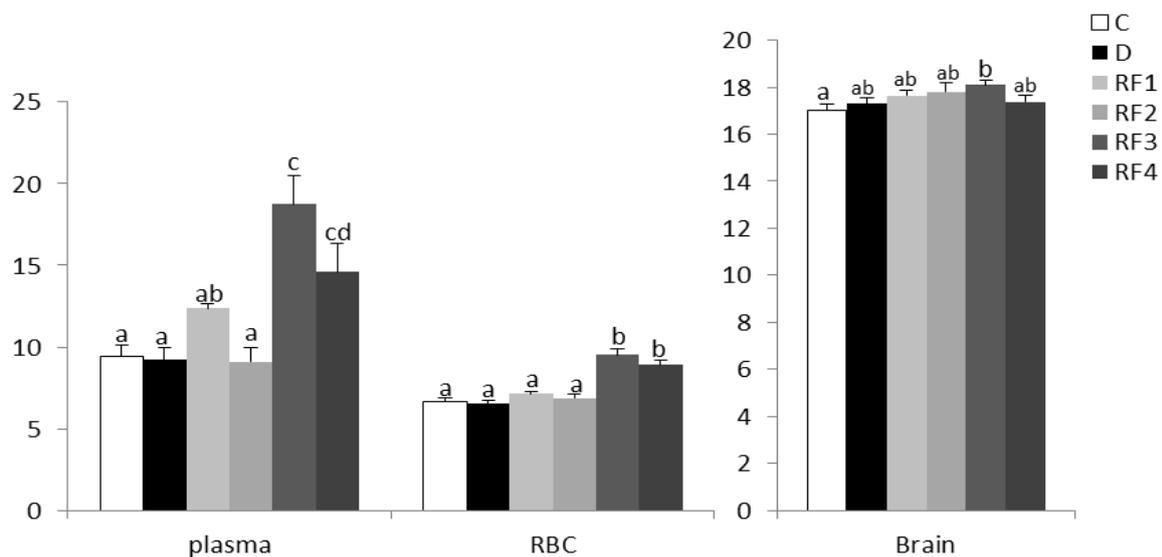
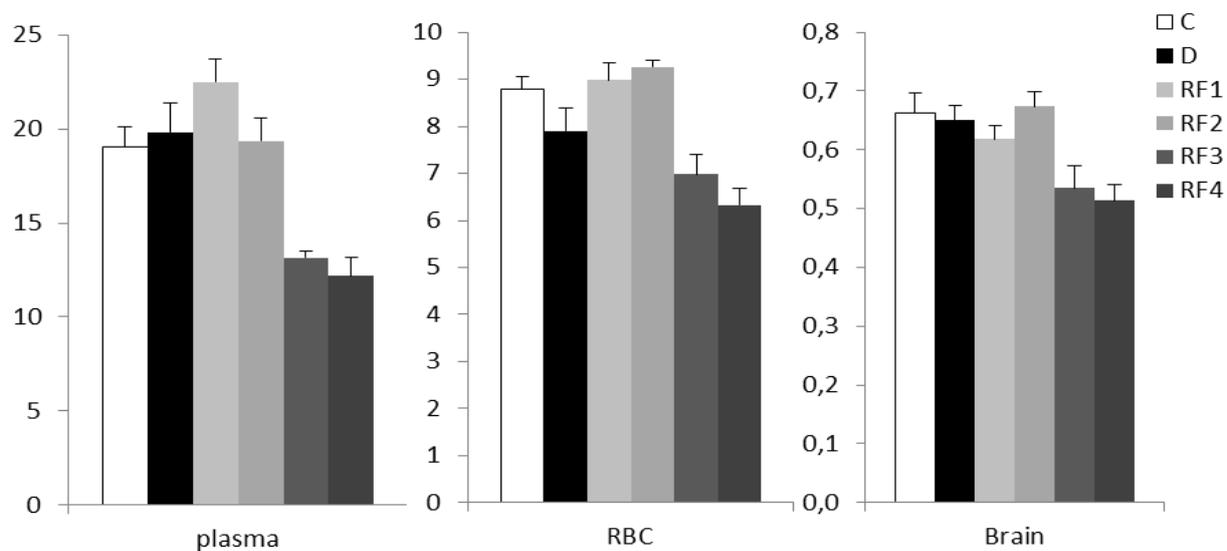


Fig 6B: LA



3. PARTIE EXPERIMENTALE

3.2. Présentation de la publication n°2

Milk soluble formula increased food intake and reduced IL6 expression in old rats hypothalamus

Les formules solubles du lait augmente la prise alimentaire et réduit l'expression hypothalamique d'IL6 chez les rats âgés.

HassinaOuldHamouda^{1,2}, Bernadette Delplanque^{1,2}, YacirBenomar^{1,2}, Delphine Crépin^{1,2},
Laure Riffault^{1,2}, Pascale LeRuyet³, Cécile Bonhomme⁴, Mohammed Taouis^{1,2,#}

¹Neuroendocrinologie Moléculaire de la Prise Alimentaire, University of Paris-Sud, UMR 8195,
Orsay, F-91405, France.

²Neuroendocrinologie Moléculaire de la Prise Alimentaire, CNRS, Centre de Neurosciences
Paris-Sud UMR8195, Orsay, F-91405, France.

³Service Nutrition - Lactalis Recherche et Développement - 8 Fromy - CS 60082 – 35240 Retiers

⁴Lactalis Nutrition Parc d'activité de Torcé-secteur Est- 35370 Torcé

To whom correspondence should be addressed:

Prof. Mohammed Taouis, Tel: 33 1 69 15 70 08, Fax: 33 1 69 15 70 74,
Email: mohammed.taouis@u-psud.fr

Soumis pour publication dans Journal of Endocrinology

3. PARTIE EXPERIMENTALE

Résumé de l'étude 2

La dénutrition chez les personnes âgées est souvent accompagnée de nombreux dérèglements métaboliques notamment l'altération du contrôle de l'homéostasie énergétique associée à la résistance à l'insuline. De nombreuses études recommandent l'enrichissement de l'alimentation des personnes âgées en protéines et en compléments énergiques. Parmi ces nutriments qui ont été largement étudiés : lipides, protéines et vitamines notamment la vitamine D.

Malgré le nombre très important d'études réalisées dans le but de déterminer une combinaison alimentaire susceptible de contrecarrer ou au moins ralentir la malnutrition observée chez certaines personnes âgées, ce domaine nécessite encore plus d'études fondamentales. En effet, il serait nécessaire d'approfondir ces études sur les modèles animaux afin d'étudier l'impact de nouvelles combinaisons de nutriments. Dans notre projet, on a utilisé le modèle de rats âgés et on l'a soumis après une restriction alimentaire à plusieurs régimes et notamment des protéines et lipides extraits du lait.

Le protocole et les régimes sont identiques à ceux présentés dans la partie 1.

Les principales conclusions de notre projet sont les suivantes : 1/ la restriction alimentaire chez les rats âgés induit la surexpression du récepteur de l'insuline dans le foie, l'hypothalamus et le tissu adipeux avec une augmentation des niveaux d'expression du facteur pro-inflammatoire TNF α au niveau hypothalamique ; 2/ tous les régimes utilisés durant la période de réalimentation augmente d'une manière similaire le poids corporel ; 3/ le régime de réalimentation composé de protéines soluble de lait, de lipides du lait en présence d'huile de colza et DHA ainsi que de vitamine D (formule complète) augmente significativement la prise alimentaire et réduit l'expression pro-inflammatoire IL6 au niveau hypothalamique.

Milk soluble formula increased food intake and reduced IL6 expression in old rats hypothalamus

Hassina Ould Hamouda ^{1,2}, Bernadette Delplanque ^{1,2}, Yacir Benomar ^{1,2}, Delphine Crépin ^{1,2}, Laure Riffault^{1,2}, Pascale LeRuyet ³, Cécile Bonhomme ⁴, Mohammed Taouis ^{1,2,#}

¹Neuroendocrinologie Moléculaire de la Prise Alimentaire, University of Paris-Sud, UMR 8195, Orsay, F-91405, France.

² Neuroendocrinologie Moléculaire de la Prise Alimentaire, CNRS, Centre de Neurosciences Paris-Sud UMR8195, Orsay, F-91405, France.

³ *Service Nutrition - Lactalis Recherche et Développement - 8 Fromy - CS 60082 - 35240 Retiers*

⁴ Lactalis Nutrition Parc d'activité de Torcé-secteur Est- 35370 Torcé

To whom correspondence should be addressed:

Prof. Mohammed Taouis, Tel: 33 1 69 15 70 08, Fax: 33 1 69 15 70 74,

Email: mohammed.taouis@u-psud.fr

Word count: 4651

The number of figures: 8

Number of tables: 2

Short title: Effects of milk proteins and fat in old rats

Key words: aging, inflammation, insulin responsiveness, milk fat, milk proteins

Abstract

The malnutrition of elderly is accompanied by several metabolic dysfunctions especially the alteration of energy homeostasis regulation and the loss of insulin responsiveness. Nutritional recommendations aim to enrich food by providing high protein and energy supplements. Among the nutrients that were widely studied the protein composition and the quality of lipids. Numerous studies attempted to overcome malnutrition in the elderly by adapting diet through nutritional supplementations; it is still necessary to study the combinations between protein composition, lipids and vitamin D. This could be achieved in animal models for malnutrition in elderly.

In the present study we investigated the impact of several diet formulae on insulin responsiveness, inflammation and hypothalamic gene expression of key genes involved in energy homeostasis control. To mimic elderly malnutrition, old Wistar rats were food restricted (-50%) during 12 weeks and then re-fed during 4 weeks with different isocaloric diets: control diet (C), diet where milk soluble proteins replaced casein (MSP), a blend of dairy fat/rapeseed/DHA (MRD) as fat or a full formulae that combines milk soluble proteins and a blend of dairy fat/rapeseed/DHA (FF).

We conclude that: 1) food restriction led to the up-regulation of insulin receptor in liver, hypothalamus and adipose tissue accompanied with increased $TNF\alpha$ in the hypothalamus; 2) in all re-fed groups, re-feeding led to similar body weight gain during the re-fed period; 3) re-feeding with a blend of dairy fat/rapeseed/DHA and milk soluble proteins induced higher food intake on the fourth re-f associated with reduced hypothalamic IL-6 expression.

Introduction

The malnutrition in older adults could be attributed to several factors including decreased food intake (Nieuwenhuizena *et al.* 2010), reduced energy expenditure due to a sedentary lifestyle. Moreover, the malnutrition in elderly subjects is due to the inappropriate consumption of different nutrients including proteins and micronutrients. This leads to the impairment of energy homeostasis control as evidenced by glucose intolerance and increased fat deposit leading to obesity (Foster *et al.* 2010). Paradoxically, aging has been also associated to anorexia resulting in the diminution of body weight and cachexia (Biolo *et al.* 2014, Rolland *et al.* 2011). Thus, aging is characterized by the alteration of energy homeostasis control and inability to respond to physiological needs (Kmiec 2011). Indeed, in old rats, the loss of appetite is associated with the down-regulation of hypothalamic neuropeptide Y (NPY) expression, an orexigenic neuropeptide, without changes in the expression of α MSH and CART, anorexigenic neuropeptides (Kmiec 2011). These changes in NPY are most likely attributed to the alteration of both leptin and insulin hypothalamic signaling (Kmiec 2011). In addition to the brain, aging progressively impairs the most metabolically active tissues such as liver, adipose tissue and muscle leading to numerous defects at the molecular and cellular levels. Insulin resistance is one of the common features of aging associated with malnutrition and metabolic disorders (Garcia-San Frutos *et al.* 2012). Importantly, insulin resistance is also a risk factor of cognitive decline and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease in elderly (Paz-Filho *et al.* 2008, Cardoso *et al.* 2009). Thus, promoting overall insulin responsiveness in elderly subjects may contribute to the delay of the onset of some aging-related disorders including eating disorders, inflammation and cognitive decline. This could be achieved through nutritional interventions. Adapting protein and lipid quality and amounts in elderly diet is one of the nutritional manipulations that may improve whole body insulin responsiveness, energy homeostasis control and inflammatory status (Panza *et al.* 2011, Akinkuoliea *et al.* 2011, Volpi *et al.* 2013). Indeed, supplementing diet with fish oil polyunsaturated (n-3) fatty acids improves insulin responsiveness and reduced pro-inflammatory factors as IL6 (Chung *et al.* 2009, Li *et al.* 2014, Taouis *et al.* 2002, Cancelas *et al.* 2007). Aging is also characterized by the loss of muscle proteins and slow muscle protein synthesis. Consequently, efforts have been made to improve diet protein composition in order to increase accretion of muscle proteins and to slow sarcopenia (Hirabara *et al.* 2013, Guillet *et al.* 2004, Katsanos *et al.* 2005, Paddon-Jones *et al.* 2004). Different protein supplementations have been tested in elderly subjects. Interestingly, whey proteins result in higher muscle protein synthesis as compared to soy proteins (Philips *et al.* 2009). This has been attributed to the fact that soy proteins are preferentially directed towards splanchnic synthesis with a higher extent as compared to whey proteins (Tang *et al.* 2009). In addition, the improvement of insulin action in muscle is crucial in maintaining a positive balance between protein synthesis and degradation, and then slowing down

sarcopenia and frailty syndrome (Fulop *et al.* 2010). Despite the tremendous number of studies attempting to overcome malnutrition in the elderly by adapting diet through nutritional supplementations (Escriva *et al.* 2007, Dangin *et al.* 2003, Nestel *et al.* 2014), it is still necessary to study the combinations between protein composition, lipids and micronutrients (as vitamin D). This could be achieved in animal models (as old rodents) for malnutrition in elderly. However, establishing these models cannot warrant a direct extrapolation to elderly subjects but could contribute to highlight some research directions.

Here, we used new nutritional combinations consisting of milk lipids and proteins in association with polyunsaturated (n-3) fatty acid in the presence of vitamin D, and investigated the impact on old malnourished rats. To our knowledge, this is the first study that combines both milk lipids and proteins in old rats. Indeed, it has been shown that despite its high content in saturated fatty acids, milk fat has been reported to improve insulin sensitivity (Holmberg *et al.* 2013) and to reduce central obesity (German *et al.* 2009). Furthermore, there is no consistent association between consumption of milk fat and the increase in cardiovascular risks (Le Ruyet *et al.* 2010). The second nutrients tested are milk proteins consisting of native whey protein prepared by microfiltration of skimmed milk. This processing fully maintains the nutritional and functional capacities of milk proteins as previously reported (Pfeifer *et al.* 2009). Thus, old Wistar rats (20 month old) were submitted to food restriction (-50%) during 12 weeks in order to mimic malnutrition. The duration of food restriction was chosen according to previous reports (Morley *et al.* 2010, Osowska *et al.* 2006). Following food restriction, animals were re-fed with different nutritional combinations during 4 weeks. We have compared control diet (soya oil/casein semi-synthetic equivalent to chow diet) to diets where milk soluble proteins replaced casein or where a blend of dairy fat/rapeseed/DHA replaced soya oil or both, with a specific increased level of proteins, in the presence of high vitamin D concentration.

MATERIALS AND METHODS

Animals and experimental design

Male Wistar rats aged 20 months were purchased from Janvier (Le Genest-St-Isle, France). They were housed individually in controlled temperature (20–22°C) and hygrometry (around 40%) in a 12 h light: 12 h darkness cycle. They had free access to water.

During the adaptation period (first 2 weeks) all rats were fed ad libitum with a control semi-synthetic diet (4% lipids from soya vegetal oil, 74% carbohydrates from sucrose and cornstarch and 14% proteins from casein, supplemented with standard vitamins and mineral mix), following classical recommendations (Table 1).

A control group was maintained ad libitum for 3 months receiving a diet similar to the adaptation diet (**AL group**) with a daily spontaneous intake of 24.5 ± 0.8 g/d (n=18). A dietary restriction program was applied to other animals and maintained for 3 months with an intake at 50% of the ad libitum diet (12g/d, same composition) proposed every morning to the animals (fig. 1). At the end of the diet restriction period, rats (23 month-old) were separated: one group was sacrificed as a food-restricted group (R group, n=18) and the others were separated in four groups for re-feeding study (n=18 per group). These four groups were assessed in order to compare the capacity of restoration on different physiological, or biochemical parameters in 4 animal groups receiving re-feeding diets differing by their protein quality or content, associated to different lipid quality and to different Vitamin D levels (table 2). All re-feeding diets were isocaloric and enriched in lipid compared to the Ad libitum control period (6% vs 4%) in the expense of sucrose (26% instead of 28%).

In order to measure food intake all groups were individually housed.

Group 1 (**CD group**) was re-fed with the control diet containing 14% casein as source of proteins and 6% of soya oil as lipids and vit D level (1UI/g). Group 2 (**MSP group**) was re-fed with similar diet as the C group, except that casein was replaced by Milk Soluble Proteins (Prolacta®, Lactalis Ingredients, Bourgbarre, France) (MSP), with the same lipid (6% soya oil) and vit D level (1UI/g), this group was assessed in order to study the effect of Milk Soluble Proteins. Group 3 (**MRD group**) was re-fed with similar diet as C group in terms of protein quantity and quality (14% casein) and vitD, except that soya oil was replaced by a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with 0.072g of DHA (long-chain omega3) (MRD), this group was assessed in order to study the effect of milk fat in combination with DHA. Group 4 was re-fed with a Full Formulae (**FF group**) containing increased level of Milk Soluble Protein (MSP) (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50) supplemented with 0.072g of DHA (MRD), and 5UI/g of Vit D (instead of 1UI/) (**table 1**), this group was assessed in order to determine the Impact of the combination of milk fat and milk soluble proteins in the presence of DHA and vit D. To avoid digestive problems a progressive refeeding from Day1 to Day5 was managed: 20g/d on D1 and D2, 25g/d on D3, 30g/d on D4 and then ad libitum.

All procedures were conducted according to the guidelines of laboratory animal care and were approved by the local governmental commission for animal research: Ethic Committee for animal experimentation of PARIS Center and South# 59 (FRANCE), with authorization # 91-519.

Insulin and leptin sensitivity

To evaluate insulin and leptin sensitivity following re-feeding, each group (n=18) has been divided to 2 sub-groups. Overnight fasted aged rats received either saline solution or insulin (1U/kg of body weight) bolus by intraperitoneal injection (IP), 30 minutes prior the sacrifice.

Metabolic and endocrine measures

Body weight and food intake were daily measured in the re-fed groups and once a week during the food restriction period.

Blood samples were collected in heparinized tubes, centrifuged (3500t/mn during 20 min), and plasma were stored at -80°C. Plasma glucose levels were measured using Accu-Chek kit (Performa). Plasma levels of insulin and leptin were measured using ELISA kits (Millipore, Molsheim, France). Plasma TNF α and IL6 levels were assayed by enzyme linked immunosorbent assay rat TNF α and IL6 ELISA kits (Invitrogen; life technology, France) respectively; according to the manufacturer's instructions.

Western blots analyses.

Following hormonal treatment, protein lysates from hypothalamus, Liver and Adipose tissue were quickly removed and frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. Samples were prepared for Western blot analyses as previously described (Berthou *et al.* 2011). Briefly, Samples were homogenized in 1 ml lysis buffer (10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM EGTA, 1 mM EDTA, 0.5% nonidet-P40, 1% Triton X-100, protease inhibitor cocktail (0.35 mg/ml phenylmethylsulphonyl fluoride, 2 mg/ml leupeptin, and 2 mg/ml aprotinin), and phosphatase inhibitor cocktail (10 mM sodium fluoride, 1 mM sodium orthovanadate, 20 mM sodium b-glycerophosphate, and 10 mM benzamide) with Precellys 24/Cryolys (hypothalamus: 20s; liver and Adipose tissue: 2 X 20s). Homogenates were incubated for 2 h at 4°C and then centrifuged (1h at 14 000 g at 4°C) and supernatants were stored at -80°C. Protein concentrations of supernatants were determined using a protein assay kit (BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific, Courtaboeuf, France). Proteins extracts (70 mg) were subjected to SDS-PAGE and transferred onto immobilon-FL membranes (immobilon-® FL transfer membrane, Millipore, France). Blots were blocked with 5% BSA (Bovine Serum Albumin – Euromedex) and then immunoblotted with primary antibodies raised against phospho (p)-AKT(ser473), AKT, insulin receptor (IR), P38 mitogen-activated protein kinases (p38MAPK), β -tubulin (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA); overnight at 4°C. For protein detection, we used horseradish peroxidase-conjugated secondary antibodies and chemiluminescence (Amersham Biosciences life technologie, France). The blots were finally scanned and quantified using the Carestream Molecular Imaging System 4000MM PRO (Carestream Health, Inc, France). Relative protein quantities were normalized using β -tubulin antibodies.

RNA extraction and quantitative RT-PCR.

Hypothalamus, liver and adipose tissue of old rats were quickly removed in RNase free conditions, immediately frozen into liquid nitrogen, and stored at -80°C. Total RNAs were prepared for quantitative RT-PCR as previously described (Benoit *et al.* 2013). Briefly, frozen samples of hypothalamus, liver and adipose tissue were homogenized using tissue homogenizer (Precellys 24) and RNA was extracted using TRIzol LS reagent (Invitrogen) according to the manufacturer's recommendations. One microgram of total RNA were reverse transcribed (F-572L M-Mulv, Finnzymes, Fontenay-sous-bois, France) and subjected to real-time PCR (Step-One, Applied

Biosystems) using adequate primers and Fast SyberGreen Master Mix (Applied Biosystems). Relative cDNA quantities were calculated from cycle thresholds (Ct) and normalized with the housekeeping gene S18 (Rps18). All q-RT-PCR primers were purchased from Sigma ; and designed for UCP-2 (forward:5'-TGGCGGTGGTCGGAGATAC-3', reverse: 5'-GGCAAGGGAGGTCGTCTGTC-3'), UCP3 (forward: 5' -CCCAAAGGAACGGACCAC-3, reverse: 5'-GGTTCTGTAGGCATCCATAGTC-3'), AdipoR1 (forward: 5'-GCTGGCCTTTATGCTGCTCG-3', reverse: 5'-TCTAGGCCGTAACGGAATTC-3'), AdipoR2 (forward:5'-CCACAACCTTGCTTCATCTA63', reverse: 5'-GATACTGAGGGGTGGCAAAC-3'), ObRb (forward:5' -ACCACATACCTCCTCACACTA-3', reverse: 5'-AGCAGTCCAGCCTACACTCTT-3'), IR (forward: 5'-TGCCACCAATCCTTCCGTTCC-3', reverse: 5' -TCCTCCGCCTG CCTCTCC-3'), NPY (forward: 50-ATGCTAGGTAACAAACG-3', reverse: 5'-ATGTAGTGTGCGCAGAG-3), IL6 (forward: 5'-GTTGCCTTCTTGGGACTGATGTT-3',reverse: 5'-ACTGGTCTGTTGTGGGTGGTATC-3'), TNF α (forward: 5'-CTCATTCTGCTCGTGGCGG-3',reverse: 5'-CCGCTTGGTGGTTGCTACGA-3'), AMPK (forward:5'-GAATGGAAGGTAGTGAATGC-3',reverse: 5'-TAAAGTCTAGAAGATAGCTCCG-3'), 18S (forward:5'-TCCCCGAGAAGTTTCAGCACAT-3', reverse: 5' -CTTCCCATCCTTCACGTCCTTC-3').

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using ANOVA (Statview Software program, version 5) for metabolic, endocrine parameters, signaling, and gene expression experiments. The results are expressed as mean \pm SEM, and P value < 0.05 was considered as statistically significant.

Results:

Impact of food restriction and diet composition during re-feeding on body weight gain of old Wistar rats.

We investigated the effect of food restriction and re-feeding using different diets on body weight gain of old Wistar rats (20 month-old). Thus, six groups of rats were formed: an ad-libitum group (AL, sacrificed before the start of food restriction), a restricted group (R, sacrificed at the end of food restriction) and four groups re-fed with different diet compositions (CD: control diet, MSP: diet containing milk soluble proteins instead of casein; MRD: diet containing milk fat and DHA; and FF: diet containing both milk lipids and soluble proteins in addition to DHA and vit D). Rats were sacrificed 30 days following the re-feeding period. Rats were food restricted (-50% of their regular intake) during 90 days and then ad-libitum re-fed for 30 days with CD, MSP, MRD or FF diets (fig 1). Before the food restriction rats exhibited a body weight of 581.8 ± 12.9 g, and following restriction they lost 104.63 ± 4.3 g. All re-fed groups gain a similar weight independently of their diets (fig 2) with a mean body weight of 623.6 g.

Impact of diet composition during re-feeding on food intake and hypothalamic expression of NPY, insulin and leptin receptors:

Following food restriction (90 days), old rats were re-fed as previously described for 30 days and food intake was measured every two or three days. During the early stage of re-feeding (until d18) all groups ingested similar amounts of food, but at d22 and d26 MRD and FF exhibited a higher food intake as compared to CD and MSP groups (fig. 3A). To investigate whether these changes are attributed to changes in the expression levels of hypothalamic neuropeptides and receptors involved in the control of food intake, we measured the expression levels of NPY, POMC, IR and ObRb. NPY expression is significantly increased in MRD and FF groups as compared to other groups (fig. 3B) whereas POMC expression was not modified (data not shown). In addition, we show a down-regulation of both IR and ObRb in MSP group as compared to all other groups (fig. 3C, and 3D). No changes were observed between control (CD) and restricted groups.

- Impact of the diet composition during re-feeding on hypothalamic expression of genes involved in cellular energy sensing:

To analyze the effects of diet composition during re-feeding on hypothalamic markers of energy sensing, the expression levels of AMPK, AdipoR1, UCP-2 and UCP-3 were determined. We show that AMPK expression is significantly increased in FF group as compared to other groups (fig. 4A). In addition, we showed that the mRNA levels of AdipoR1 (fig.4B) and UCP3 (fig. 4C) are significantly

reduced in MSP group. Figure 4C shows that UCP-2 expression is down-regulated in CD, MSP and MRD groups as compared to FF group.

- Impact of food restriction and re-feeding on endocrine parameters and insulin responsiveness in old rats:

We showed that food restriction is associated with a significant decrease in plasma levels of glucose and insulin, with reduced HOMA index as compared to AL group (table2). Re-feeding during 30 days increased plasma levels of insulin and leptin in all re-fed groups to reach the levels of AL group (table 2). In addition, the HOMA index was also restored. It is noteworthy that plasma insulin levels are lower in FF group as compared to other re-fed groups. However, pro-inflammatory factors (IL6 and TNF α) were not affected by restriction nor by the quality of diet during the re-feeding (table 1).

-Impact of food restriction and re-feeding on liver insulin responsiveness:

We investigated the impact of food restriction on insulin responsiveness of old rats by measuring insulin receptor expression in liver and adipose tissue. We show that restriction induced the up-regulation of insulin receptor in both liver and adipose tissue (fig. 5A, 5B and 5B). However, the insulin-dependent Akt phosphorylation in the liver was not significantly modified by food restriction and insulin is able to phosphorylate Akt in both AL and R groups (fig. 5D). In addition, food restriction led to the augmentation of inflammation markers in the liver and the hypothalamus. Indeed, food restriction increased p38MAP kinase phosphorylation in the liver and TNF α expression in the hypothalamus (fig. 5E and 5F, respectively).

To investigate the impact of diet composition during re-feeding on insulin-responsiveness, Akt phosphorylation was measured in response to insulin challenge. We show that, insulin significantly increased Akt phosphorylation in the liver of all groups (fig 6 A, B, C, D). However, the amplitude of response was significantly lower in the MSP group as compared to other groups (fig. 6E).

- Impact of food restriction and re-feeding on liver expression of adiponectin receptors and AMP kinase:

To investigate the effect of diet composition on the cellular energy sensing in liver, we studied the potential changes in adiponectin receptors and AMPK activity. Following food restriction and re-feeding with different diets as previously described, the expression levels of AdipoR1, AdipoR2 and AMPK were assessed by qRT-PCR in the liver. No differences were observed between the different groups tested before or during food restriction nor during re-feeding, except that the expression of AdipoR1, AdipoR2 and AMPK is significantly increased in CD group as compared to other groups (fig. 7A, 7B and 7C).

- Impact of re-feeding on liver pro-inflammatory factors:

To determine the effect of re-feeding on liver inflammation, we have compared the expression levels of TNF α and IL6 in liver of re-fed groups to AL and R groups. The expression of TNF α is significantly higher in AL group as compared to food-restricted group and this diminution is maintained independently of the composition of re-feeding diet (fig. 7D). IL6 expression is significantly higher in AL and R groups as compared to all re-fed groups and this independently of diet composition (fig. 7E).

- Impact of food restriction and re-feeding on hypothalamic expression of TNF α and IL6:

To determine the potential impact of different diets used during re-feeding period on hypothalamic inflammation, we measured the expression of two markers: TNF α and IL6. We show that food restriction significantly increased the expression of TNF α and re-feeding, independently of diet composition, reduced its expression to reach the same level as AL group (fig. 8A). We also show that IL6 expression is significantly reduced in FF group as compared to all other groups including R and AL groups (fig. 8B).

Discussion

Nutritional manipulations is now considered one of the promising solution to overcome, or at least attenuate, many age-related disorders and diseases such as atherosclerosis, cancers, diabetes, sarcopenia, metabolic syndrome, inflammation and obesity. Indeed, many reports revealed increased malnutrition in the elderly which is associated with frailty, decline in muscle mass and impairment of energy homeostasis control. Among nutrients that have been extensively studied for nutritional manipulations during aging, the proteins take an important place. Indeed, this has been driven by the important loss of skeletal muscle that could be, at least partially, attributed to amino acids availability (Fukagawa 2013). Besides proteins, diet composition on carbohydrate and fat has been also given much attention because of metabolic disorders associated to these macronutrients in the elderly (insulin resistance, type 2 diabetes and obesity). However, the nutritional manipulations are complex because macronutrients such as proteins, fat and carbohydrate are involved in the regulation of food intake through amino acids, fatty acids and glucose, respectively, and this could interfere with the theoretical efficacy of each nutrient. To add to the complexity, the combination of nutrients with different quality, composition or energetic values could also play a role in elderly diet and its efficiency and availability.

In the present work we aimed to analyze the impact of different diets that differ in their compositions in terms of proteins and fat quality on insulin responsiveness, inflammation and the expression of genes involved in the control of energy homeostasis in old malnourished Wistar rats. A special focus was given to the combination of milk soluble proteins and milk lipids.

To mimic malnutrition, we have subjected old rats (20 months) to food restriction (50%) during 12 weeks and this led, as expected, to a significant reduction of body weight accompanied with diminished glucose, insulin and leptin plasma levels. Food restriction induced the up-regulation of insulin receptor in liver and adipose tissue, and maintained liver insulin-dependent Akt phosphorylation as compared to ad libitum group. This is mostly due to the striking reduction of plasma insulin levels. The food restriction of old rats induced the augmentation of p38 MAP kinase phosphorylation in liver which is generally considered as a marker of cellular inflammation and promotes the defect of insulin responsiveness (Qi *et al.* 2013). Food restriction also increased pro-inflammatory factor TNF α in the hypothalamus. The latest impairment is in good agreement with the alteration of insulin signaling but in opposition with our early statement where food restriction did not alter liver insulin-dependent Akt phosphorylation and this may be explained by a degree of insulin alteration. Indeed, the food restriction reduced insulin plasma levels but most likely increased animal stress, which may contribute to the onset of hypothalamic inflammation and activation of liver p38, MAP kinase (Garcia-San Frutos *et al.* 2012).

Following food restriction, we have re-fed 4 groups with different diets differing by their content in protein and fat quality, and in Vitamin D. Independently of diet quality, we show that all re-fed groups gain similar body weight and almost reach the body weight of ad libitum fed group. This body weight catch up reaches almost 80% within 4 weeks of re-feeding. This is associated with significant increase of plasma leptin levels in all groups. However, plasma insulin levels were significantly increased in all re-fed groups as compared to restricted groups, but FF group exhibits a significantly lower plasma insulin levels as compared to C, MSP and MRD group. Thus, in FF group the plasma glucose level is similar to that of all other re-fed groups with lower plasma insulin level and this could be attributed to better insulin responsiveness. Indeed, the full formula contains both milk fat and milk soluble proteins with high concentration of vitamin D. Furthermore, FF group exhibited a higher food intake that is correlated to the up-regulation of orexigenic neuropeptide NPY in the hypothalamus. Similar results concerning food intake were obtained with MRD group. FF and MRD diets share in common similar content of milk fat and rapeseed/DHA. Thus we suggest that the fat quality increased the appetite for these two diet combinations. However, the combination of fat milk with milk soluble proteins seems to have a beneficial effect as compared to MRD group as evidenced the reduced expression of pro-inflammatory cytokine IL6 in the hypothalamus of FF group. Indeed, it has been reported that the hypothalamic inflammation is implicated in the alteration of neural circuitry and subsequent impairment of energy homeostasis regulation (Meng *et al.* 2011). Thus, these beneficial effects of FF formulation are due probably to the combination of milk soluble proteins, milk fat associated LC-omega 3 fatty acids and high doses of vitamin D. Indeed, whey proteins have been described to improve insulin responsiveness (Arciero *et al.* 2014) and vitamin D supplementation has been described to reduce neuroinflammation (Adzemovic *et al.* 2013 38) and its deficiency promotes cognitive decline (Keeney *et al.* 2013). In addition, the protective effects of omega 3 fatty acids have been previously described concerning their action to prevent insulin resistance, inflammation and neuro-inflammation (Kalupahana *et al.* 2011, Oliver *et al.* 2012, Figueras *et al.* 2011).

Taken together our results show that: 1) food restriction led to the up-regulation of insulin receptor in liver, hypothalamus and adipose tissue accompanied with increased pro-inflammatory TNF α in the hypothalamus of old Wistar rats, 2) in all re-fed groups, re-feeding led to similar body weight gain at the end of the 4 weeks of re-fed period, 3) re-feeding with a blend of dairy fat/rapeseed/DHA (full formulae or MRD) induced a higher food intake, 4) the combination of milk soluble proteins and fat milk in the presence of vitD and omega 3 PUFA (FF group) reduced hypothalamic IL-6 expression.

Declaration of interest

Hassina Ould Hamouda has no conflict of interest, Bernadette Delplanque has no conflict of interest, Yacir Benomar has no conflict of interest, Delphine Crepin has no conflict of interest, Laure Riffault has no conflict of interest, Pascale Leruyet has no conflict of interest, Cecile Bohomme has no conflict of interest, Mohammed Taouis has no conflict of interest.

Funding

There is no online supplemental material, this study is supported by a grant from Agence Nationale de la Recherche (ANR, French Agency for Research) (ANR-2010-ALLIA-013-05 PRESAGE).

Author contributions:

HOH performed most experiments and participates in writing the manuscript, BD participate in the experimental design, the interpretation of nutritional data and in manuscript revision, YB performed a part of experiments, DC performed most qRT-PCR experiments, LR performed most ELISA analyses, PL and CB provided specific diets, contributed to the experimental design and to the manuscript revision, MT designed and supervised the study, and wrote the paper. All authors read and approved final manuscript.

Acknowledgment:

These studies were supported by Agence Nationale de la Recherche (ANR, French Agency for Research) (ANR-2010-ALLIA-013-05 PRESAGE).

We thank all colleagues involved in PRESAGE for their fruitful discussions and comments: S. Walrand, J.C. Martin, Y. Rolland and D. Séguy.

We are thankful to J. Lefebvre for animal care.

References

- Adzemovic MZ, Zeitelhofer M, Hochmeister S, Gustafsson SA & Jagodic M 2013 Efficacy of vitamin D in treating multiple sclerosis-like neuroinflammation depends on developmental stage. *Exp Neurol* **249** 39-48.
- Akinkuoliea AO, Ngwa JS, Meigs JB & Djoussé L 2011 Omega-3 polyunsaturated fatty acid and insulin sensitivity: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition* **30** 702–70.
- Arciero PJ, Baur D, Connelly S & Ormsbee MJ 2014 Timed-daily ingestion of whey protein and exercise training reduces visceral adipose tissue mass and improves insulin resistance: the PRISE study. *J Appl Physiol* **117** 1-10.
- Benoit C, Ould-Hamouda H, Crepin D, Gertler A, Amar L & Taouis M 2013 Early leptin blockade predisposes fat-fed rats to overweight and modifies hypothalamic microRNAs. *J Endocrinol* **218** 35-47.
- Berthou F, Rouch C, Gertler A, Gerozissis K & Taouis M 2011 Chronic central leptin infusion differently modulates brain and liver insulin signaling. *Mol Cell Endocrinol* **337** 89-95.
- Biolo G, Cederholm T & Muscaritoli M 2014 Muscle contractile and metabolic dysfunction is a common feature of sarcopenia of **aging** and chronic diseases: From sarcopenic obesity to **cachexia**. *Clin Nutr* **33** 737-48.
- Cancelas J, Prieto PG, Villanueva-Penacarrillo ML, Zhang Y, Portois L, Sener A, Carpentier YA, Valverde I & Malaisse WJ 2007 Glucose intolerance, associated to insulin resistance and increased insulin secretion in rats depleted in long-chain omega3 fatty acids. *Horm metab Res* **39** 823-5.
- Cardoso S, Correia S, Santos RX, Carvalho C, Santos MS, Oliveira CR, Perry G, Smith MA, Zhu X & Moreira P 2009 Insulin is a two-edged knife on the brain.- *J Alzheimer Disease* **18** 483-507.
- Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP & Leewenburgh C 2009 Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews* **8** 19-30.
- Dangin M, Guillet C, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Bouteloup-Demange C, Reiffers-Magnani K, Fauquant J, Ballèvre & Beaufrère B 2003 The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *J Physiol* **549** 635-44.
- Escrivá F, Gavete ML, Fermín Y, Pérez C, Gallardo N, Alvarez C, Andrés A, Ros M & Carrascosa JM 2007 Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J Endocrinol* **194** 131-41.
- Figueras M, Olivan M, Busquets S, López-Soriano FJ & Argilés JM 2011 Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: improvement of the inflammatory status. *Obesity (Silver Spring)* **19** 362-9.
- Foster MT, Shi H, Seeley RJ & Woods SC 2010 Transplantation or removal of intra-abdominal adipose tissue prevents age-induced glucose insensitivity. *Physiol Behav* **101** 282-8.
- Fulop T, Larbi A, Witkowski JM, McElhaney J, Loeb M, Mitnitski A & Pawelec G 2010 Aging, frailty and age-related diseases. *Biogerontology* **11** 547-63.

- Fukagawa NK 2013 Protein and amino acid supplementation in older humans. *Amino Acids* **44** 1493-1509.
- García-San Frutos M, Fernández-Agulló T, Carrascosa JM, Horrillo D, Barrús MT, Oliveros E, Sierra J & Ros M 2012 Involvement of protein tyrosine phosphatases and inflammation in hypothalamic insulin resistance associated with ageing: effect of caloric restriction. *Mech Ageing Dev* **133** 489-497.
- German JB, Gibson RA, Krauss RM, Nestel P, Lamarche B, Van Staveren WA, Steinjns JM, De Groot LC, Lock AL & Destailats F 2009 A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur J Nutr* **48** 191-203.
- Guillet C, Prod'homme M, Balage M, Gachon P, Giraudet C, Morin L, Grizard J & Boirie Y 2004 Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans. *FASEB J* **18** 1586-7.
- **Hirabara SM**, Folador A, Fiamoncini J, Lambertucci RH, Rodrigues CF Jr, Rocha MS, Aikawa J, Yamazaki RK, Martins AR, Rodrigues AC, Carpinelli AR, Pithon-Curi TC, Fernandes LC, Gorjão R & Curi R 2013 Fish oil supplementation for two generations increases insulin sensitivity in rats. *J Nutr Biochem* **24** 1136-45.
- Holmberg S & Thelin A 2013 High dairy fat intake related to less central obesity: A male cohort study with 12 years' follow-up. *Scand J Prim Health Care* **31** 89-94.
- Kalupahana NS, Claycombe KJ & Moustaid-Moussa N 2011 (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. *Adv Nutr* **2** 304-16.
- Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A & Wolfe RR 2005 Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am J Clin Nutr* **82** 1065-73.
- Kmiec Z 2011 Aging and peptide control of food intake. *Curr Protein Pept Sci* **12** 271-9.
- Keeney JT, Förster S, Sultana R, Brewer LD, Latimer CS, Cai J, Klein JB, Porter NM & Allan Butterfield D 2013 Dietary vitamin D deficiency in rats from middle to old age leads to elevated tyrosine nitration and proteomics changes in levels of key proteins in brain: implications for low vitamin D-dependent age-related cognitive decline. *Free Radic Biol Med* **65** 324-34.
- Le Ruyet P & Le Goer P 2010 A native whey protein extract to fight sarcopenia. *NutraFoods* **9** 33-37.
- Li K, Huang T, Zheng J, Wu K & Li D 2014 Effect of marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids on C-reactive protein, interleukin 6 and tumor necrosis factor α : a meta-analysis. *PLoS One* **9** e88103.
- Meng Q & Cai D 2011 Defective hypothalamic autophagy directs the central pathogenesis of obesity via the I κ B kinase beta (IKK β)/NF- κ B pathway. *J Biol Chem* **286** 32324-32.
- Morley JE 2010 Nutrition and the aging male. *Clin Geriatr Med* **26** 287-299.
- Nestel PJ, Traznicky NS, Mellett NA, Wong G, De Souza DP, Tull DL, Barlow CK, Grima MT & Meikle PJ 2014 Specific plasma lipid classes and phospholipid fatty acids indicative of dairy food consumption associate with insulin sensitivity. *Am J Clin Nutr.* **99** 46-53.

- Nieuwenhuizena WF, H , Weenena H, Rigby P & Hetherington MM 2010 Older adults and patients in need of nutritional support: Review of current treatment options and factors influencing nutritional intake. *Clinical Nutrition* **29** 160-9.
- Oliver E, McGillicuddy FC, Harford KA, Reynolds CM, Phillips CM, Ferguson JF & Roche HM 2012 Docosahexaenoic acid attenuates macrophage-induced inflammation and improves insulin sensitivity in adipocytes-specific differential effects between LC n-3 PUFA. *J Nutr Biochem* **23** 1192-200.
- Osowska S, Duchemann T, Walrand S, Paillard A, Boirie Y, Cynober L & Moinard C 2006 Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **291** E582-6.
- Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Zhang XJ, Volpi E, Wolf SE, Aarsland A, Ferrando AA & Wolfe RR 2004 Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286** E321-8.
- Panza F, Solfrizzi V, Frisardi V, Maggi S, Sancarlo D, Adante F, D'Onofrio G, Seripa D & Pilotto A 2011 Different models of frailty in predementia and dementia syndromes. *J Nutr Health Aging* **15** 711-9.
- Paz-Filho GJ, Babikian T, Asanow R, Esposito K, Erol HK, Wong ML & Licinio J 2008 Leptin replacement improves cognitive development. *PlosOne* **3** 8-e3098
- Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Suppan K, Fahrleitner-Pammer A & Dobnig H 2009 Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporos Int* **20** 315-22.
- Philips SM, Tang JE & Moore DR 2009 The role of milk – and soy-based protein in support of muscle synthesis and muscle protein accretion in young and elderly persons. *J Am Coll Nutr* **28** 343-354.
- Qi Y, Xu Z, Zhu Q, Thomas C, Kumar R, Feng H, Dostal DE, White MF, Baker KM & Guo S 2013 Myocardial loss of IRS1 and IRS2 causes heart failure and is controlled by p38 α MAPK during insulin resistance. *Diabetes* **62** 3887-900.
- Rolland Y, Van Kan GA, Gillette-Guyonnet S & Vellas B 2011 Cachexia versus sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **14** 15–21.
- Tang JE & Phillips SM 2009 Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **12** 66-71.
- Taouis M, Dagou K, Ster C, Durand G, Pinault M & Delarue J 2002 N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **282** E664-671.
- Volpi E, Campbell WW, Dwyer JT, Johnson MA, Jensen GL, Morley JE & Wolfe RR 2013 Is the optimal level of protein intake for older adults greater than the recommended dietary allowance? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **68** 677-681.

Legend to figures

Figure 1

Food restriction and re-feeding protocol for old Wistar rats. Old Wistar rats (20 month old) were fed for two weeks chow diet during two weeks then divided into 6 groups. One group was maintained under chow diet (AL) and all other groups were food restricted during 12 weeks. The AL group was sacrificed at week 12 whereas the remaining groups were re-fed with different diets during 4 weeks before sacrifice: CD, MSP, MRD and FF groups. CD: re-fed with a control diet containing 14% casein as source of proteins; MSP: re-fed with similar diet as CD except that casein was replaced by Milk-Soluble-Protein with the same lipid (6% soya oil) and vit D level (1UI/g); MRD : re-fed with similar diet as CD in terms of protein quantity and quality (14% casein) and vitD, except that soya fat was replaced by 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50)supplemented with DHA (long-chain omega3); FF: re-fed with a full formulae containing milk soluble protein (22% vs 14%) at the expense of sucrose (18% vs 26%), with a 6% blend of milk-fat and rapeseed (50/50)supplemented with DHA, and 5UI/g of Vit D (instead of 1UI/).

Figure 2

Impact of food restriction in re-feeding in old Wistar rats. Wistar old rats (20 week old) were divided into two groups: an ad libitum fed group (AL) and food restricted group (-50% of energy intake, R), these groups were maintained for 90 days under these regimen. Al group was sacrificed at day 90 and R group was divided into 5 groups, one group was sacrificed under the fed-restriction state (R), and the other groups were re-fed with CD, MSP, MRD or FF diets for additional 30 days. Body weight was measured daily and results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, ** indicates $p < 0.001$.

Figure 3

Impact of re-feeding on food intake and hypothalamic expression of NPY, insulin and leptin receptors. A: Food intake as Kcal/BW was measured from day 4 to day 26 of re-feeding period. Until day 8 all re-fed groups received the same amount of food, and then all groups were re-fed ad libitum with the adequate diet. results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, *** indicates $p < 0.001$. The hypothalamic expression of NPY (B), insulin receptor (IR, panel C) and leptin receptor (ObRb, panel D) was measured using qRT-PCR of total RNA extracted from all groups at the end of the experiment. Results were normalized to 18S ribosomic RNA and expressed as mean results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates $p < 0.05$ when samples were compared to AL group.

Figure 4

Impact of food restriction and re-feeding on hypothalamic expression of genes involved in energy homeostasis. Following sacrifice and hypothalamus extraction, total RNAs from all groups were subjected to qRT-PCR using adequate primers to quantify AMPK, Adiponectin receptor 1, UCP-2 and UCP-3 expression. Results were normalized to 18S ribosomic RNA and expressed as mean results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates $p < 0.05$ when samples were compared to AL group, and different letters indicate that groups were significantly different with $p < 0.05$.

Figure 5

Impact of food restriction on insulin signalling in liver and adipose tissue and on hypothalamic inflammation in old Wistar rats. A: Liver from ad libitum fed and restricted groups were subjected to qRT-PCR using primers to amplify IR, results were normalized using 18S ribosomal RNA, results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when comparing AL to R groups. B: Proteins were prepared from liver of AL and R groups and subjected to Western blot using antibodies directed towards IR and results are normalized to β -tubulin. Results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when comparing AL to R groups. C: Adipose tissue from ad libitum fed and restricted groups were subjected to qRT-PCR using primers to amplify IR, results were normalized using 18S ribosomal RNA, results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when comparing AL to R groups. D: To evaluate insulin responsiveness AL and R groups received a bolus insulin or placebo treatment and then liver proteins were solubilized and subjected to Western blot using antibodies directed towards phosphorylated Akt, and results were normalized using antibodies directed towards total Akt. Results are expressed as mean results are expressed as mean \pm SEM, n= 6, *** indicates p<0.001 when comparing insulin treated animals to animals treated with saline. E: To determine the impact of restriction on the phosphorylation of MAP kinase p38, solubilized proteins from liver of AL and R groups are subjected to Western blot using antibodies directed towards phosphorylated P38, and results are normalized to total P38. Results are expressed as mean results are expressed as mean \pm SEM, n= 6, * indicates p<0.05. F: hypothalamus from ad libitum fed and restricted groups were subjected to qRT-PCR using primers to amplify TNF α , results were normalized using 18S ribosomal RNA, results are expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when comparing AL to R groups.

Figure 6

Impact of re-feeding on insulin responsiveness in liver of old Wistar rats. Liver proteins were solubilized from CD (A), MSP (B), MRD (C) and FF (D) groups and subjected to Western blot using antibodies directed towards phosphorylated Akt. Results were normalized to total Akt using specific antibodies. Bands were quantified using Carestream apparatus and quantified using Carestream software. Results are expressed as mean \pm SEM, n= 6, * indicates p<0.05. E: This panel represents the comparison between re-fed groups regarding the insulin-dependent Akt phosphorylation response amplitude (Insulin/saline). Results are expressed as mean \pm SEM, n= 6, and different letters indicates indicates p<0.05.

Figure 7

Impact of re-feeding on liver genes involved in energy homeostasis and inflammation. Following sacrifice and liver extraction, total RNAs from all groups were subjected to qRT-PCR using adequate primers for Adiponectin receptor 1 (A), adiponectin receptor 2 (B), AMPK (C), TNF α (D) and IL6 (E) expression. Results were normalized to 18S ribosomal RNA and expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when samples were compared to AL group.

Figure 8

Impact of food restriction and re-feeding on hypothalamic genes involved in inflammation. Following sacrifice and hypothalamic extraction, total RNAs from all groups were subjected to qRT-PCR using adequate primers for TNF α (A) and IL6 (B) expression. Results were normalized to 18S ribosomal RNA and expressed as mean \pm SEM, n= 18, * indicates p<0.05 when samples were compared to AL group.

Table 1 : Composition of diets.

		<i>Ad libitum</i> (AL)	<i>Restriction</i> (12 weeks)		Refeeding (4 weeks)		
			Denutrition (D)	control Diet (CD)	Milk Soluble Proteins (MSP)	Rapeseed Milk fat DHA (RMD)	Full formulae (FF)
PROTEINS (G)	CASEIN	14	14	14	0	14	0
	MILK SOLUBLE PROTEINS	0	0	0	13,5	0	21,2
FATS (G)	SOYA	4	4	6	6	0	0
	MILK FATS	0	0	0	0	3	3
	RAPESEED	0	0	0	0	3	3
	DHA	0	0	0	0	0,072	0,072
CARBOHYDRATES (G)	SUCROSE	28	28	26	26	26	18
	CORNSTARCH	46	46	46	46	46	46
	CELLULOSE	4	4	4	4	4	4
VITAMIN	VIT D UI/G	1	1	1	1	1	5
4% Mineral Mix + Standard Vitamins							
TOTAL (G)		100	100	100	100	100	100

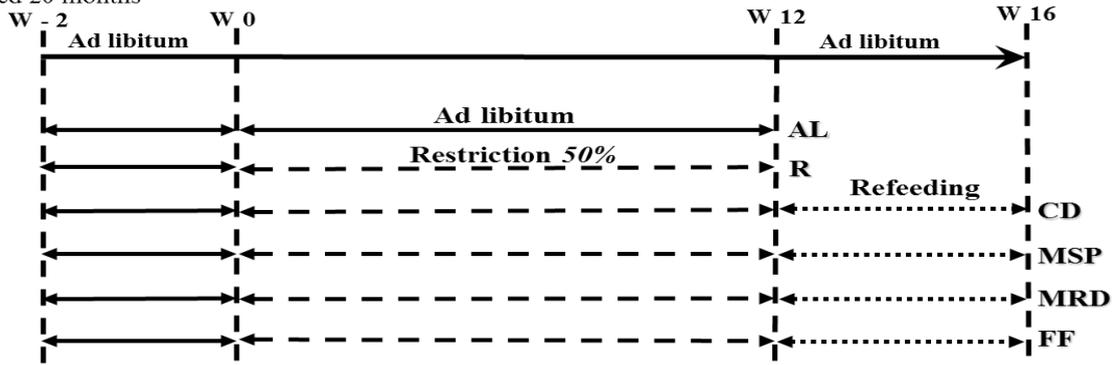
Table 2 : Endocrine parameters and pro-inflammatory factors.

	<i>Ad libitum</i> (AL)	<i>Restriction</i> (12 weeks)		Refeeding (4 weeks)		
		Denutrition (D)	control diet (CD)	Milk soluble proteins (MSP)	Rapeseed, Milk fat, DHA (MRD)	Full formulae (FF)
<i>Endocrine parameters</i>						
n	6	6	6	6	6	6
Glycemia (mg/ml)	1.1 ± 0.05 ^a	0.71 ± 0.02 ^b	0.94 ± 0.04 ^c	0.87 ± 0.08 ^{b,c}	0.93 ± 0.08 ^c	0.92 ± 0.05 ^c
Insulinemia (ng/ml)	1.07 ± 0.33 ^a	0.3 ± 0.06 ^c	1.16 ± 0.17 ^{a,d}	1.69 ± 0.22 ^{b,d}	1.97 ± 0.23 ^b	0.88 ± 0.16 ^{a,c}
Leptinemia (ng/ml)	10.79 ± 1.15 ^b	2.64 ± 2.03 ^a	10.64 ± 1.83 ^b	12.18 ± 1.03 ^b	13.03 ± 0.8 ^b	12.83 ± 1.83 ^b
HOMA index	0.36 ± 0.92 ^{a,b}	0.05 ± 0.01 ^c	0.2 ± 0.03 ^b	0.33 ± 0.04 ^{a,b}	0.46 ± 0.08 ^a	0.2 ± 0.05 ^{b,c}
<i>proinflammatory factors</i>						
n	6	6	6	6	6	6
TNFα (pg/ml)	17.44 ± 2.42	13.5 ± 1.35	19.82 ± 2.93	16.95 ± 3.76	14.62 ± 1.25	13.47 ± 0.86
IL-6 (ng/ml)	145.87 ± 8.24	158.73 ± 21.19	143.49 ± 4.48	142.54 ± 4.92	154.13 ± 5.43	173.97 ± 10.73

Results are expressed as mean ± SEM, different letters indicate significant differences with at least p<0.05.

Fig. 1

Male Wistar rats
aged 20 months



G1 (AL): (Ad libitum).

G3 (R): (Restriction).

G4 (CD): (control diet).

G6 (MSP): (milk soluble proteins).

G10 (MRD): (milk fat/rapseed/DHA).

G11 (FF): (Full formulae).

Fig. 2

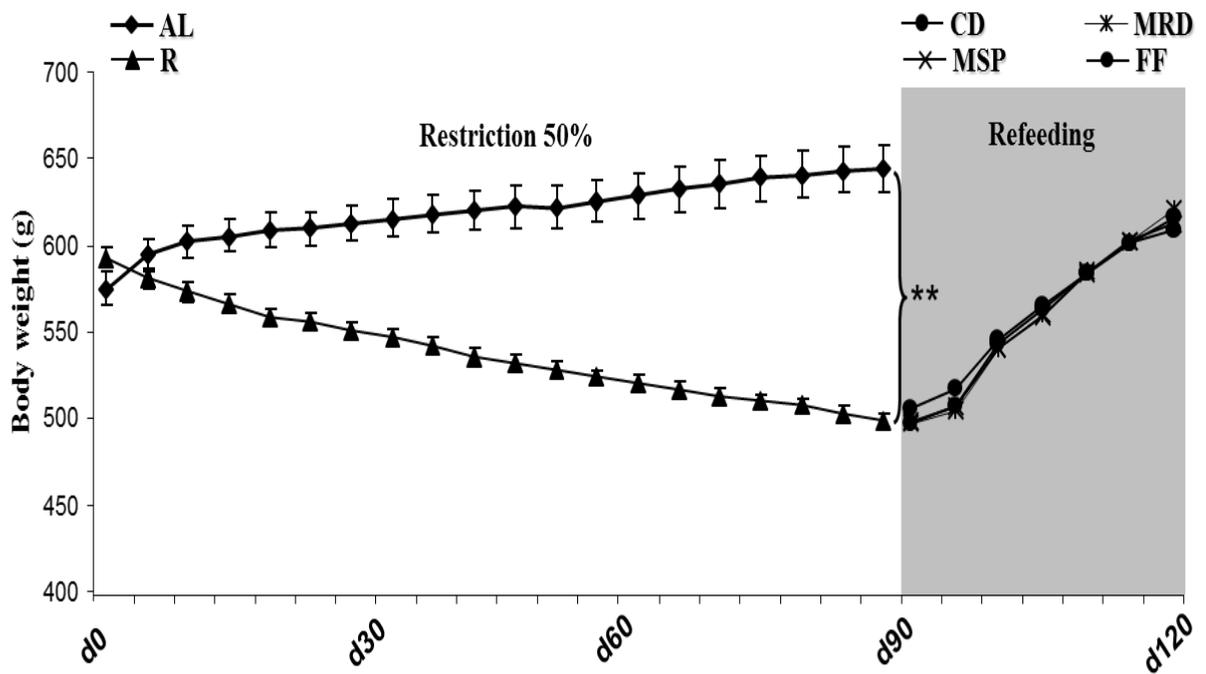
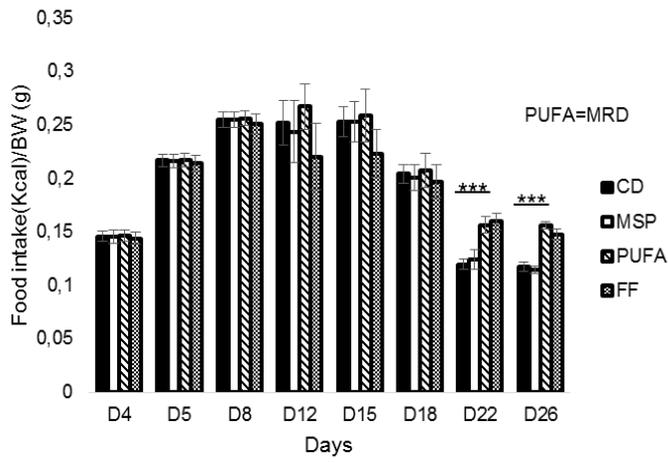
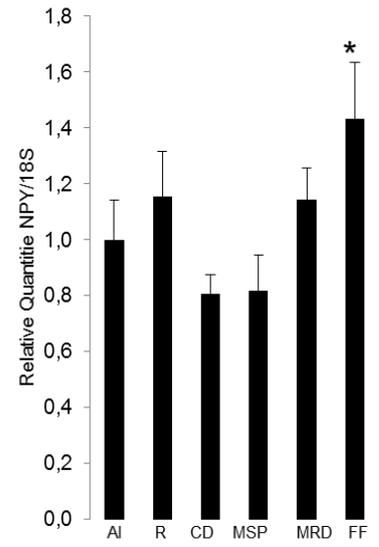


Figure 3

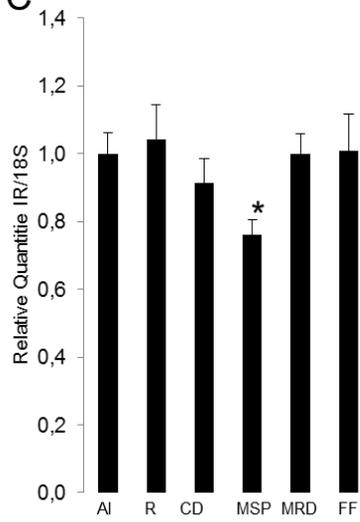
A



B



C



D

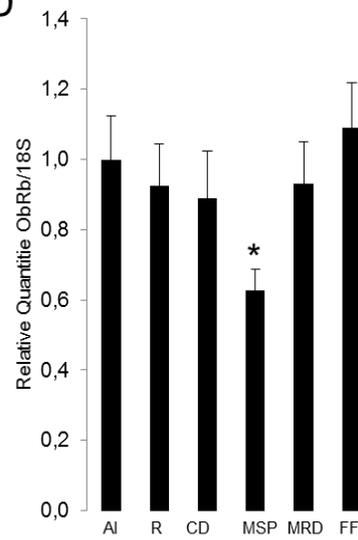


Figure 4

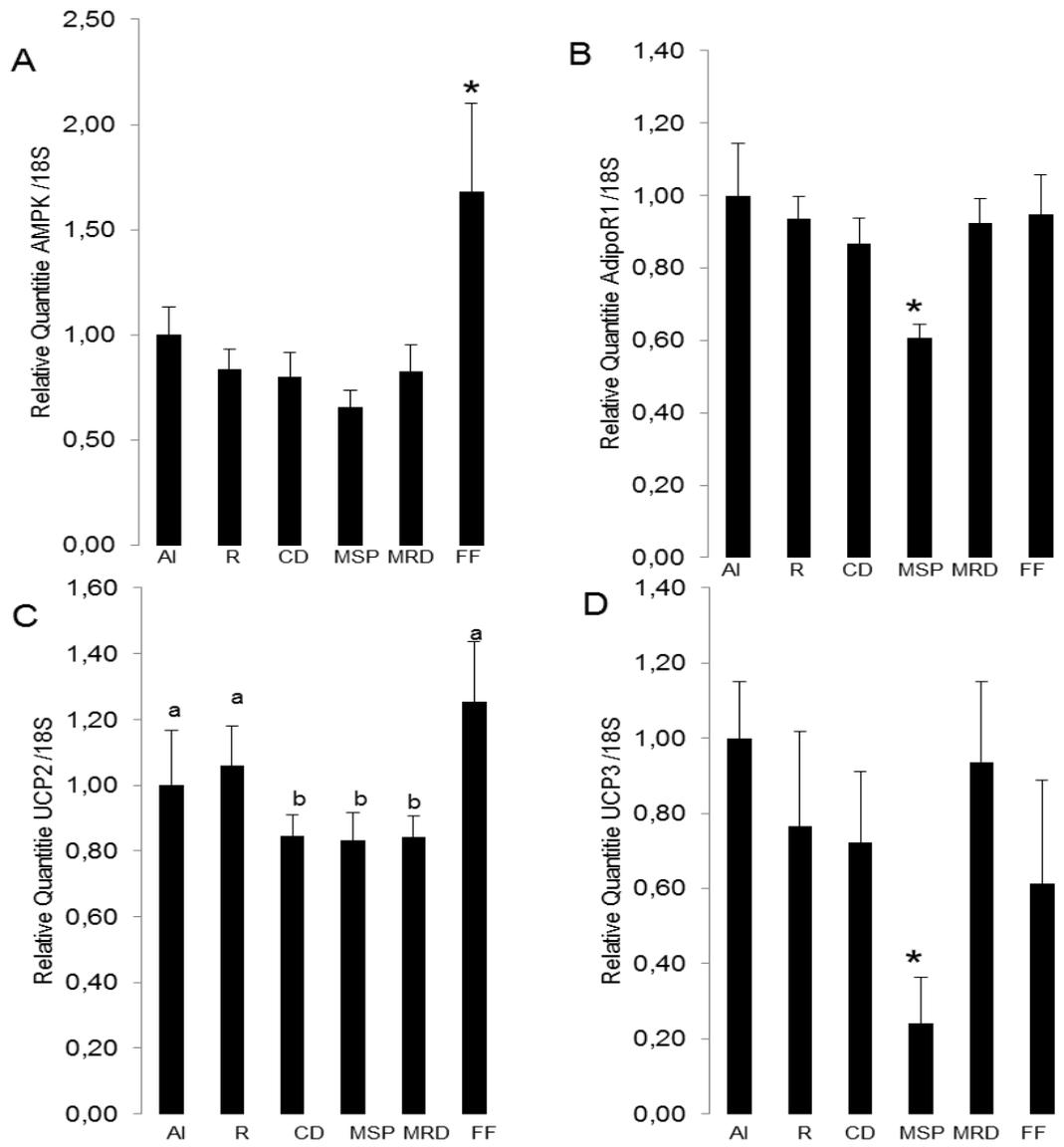


Figure 5

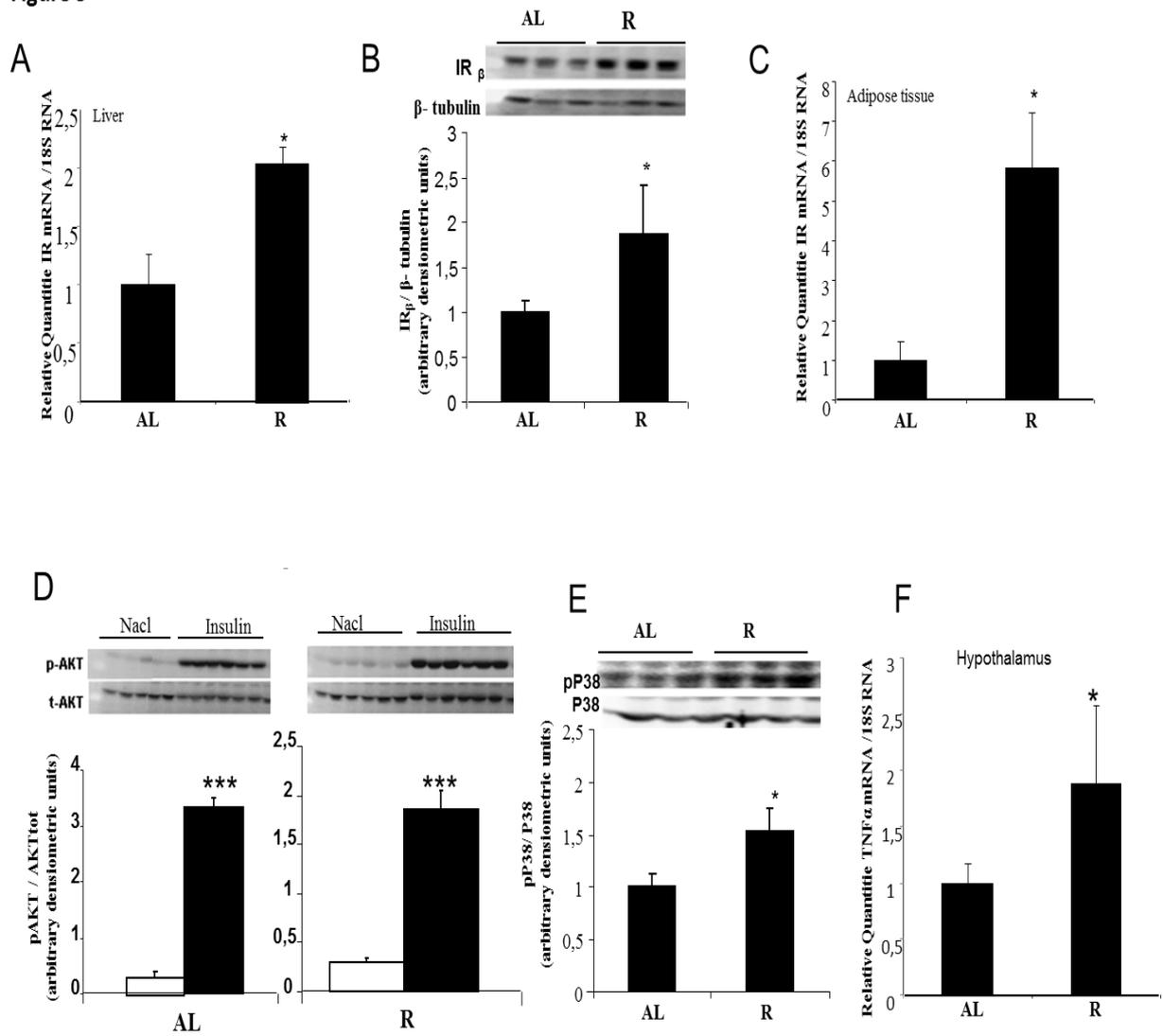


Figure 6

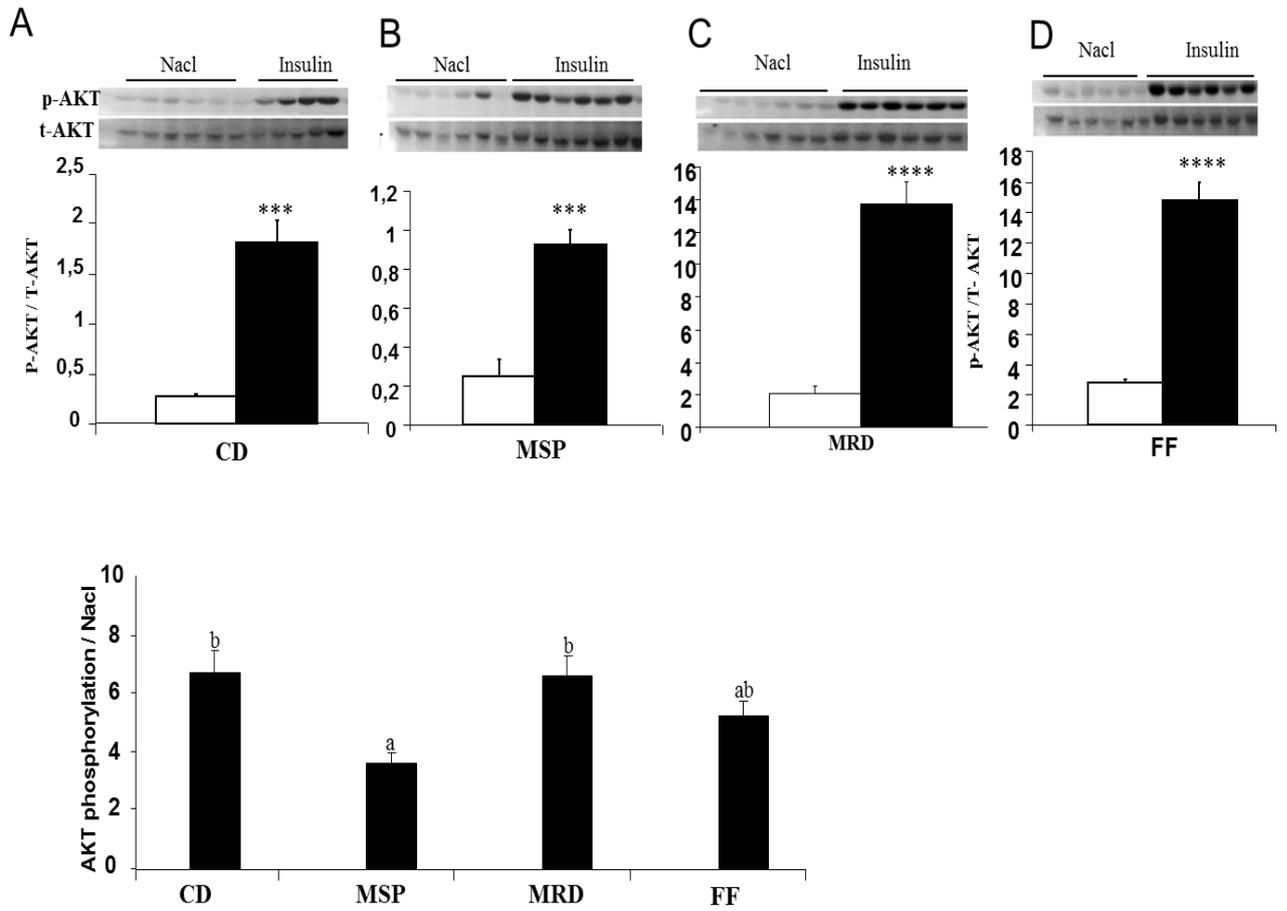


Figure 7

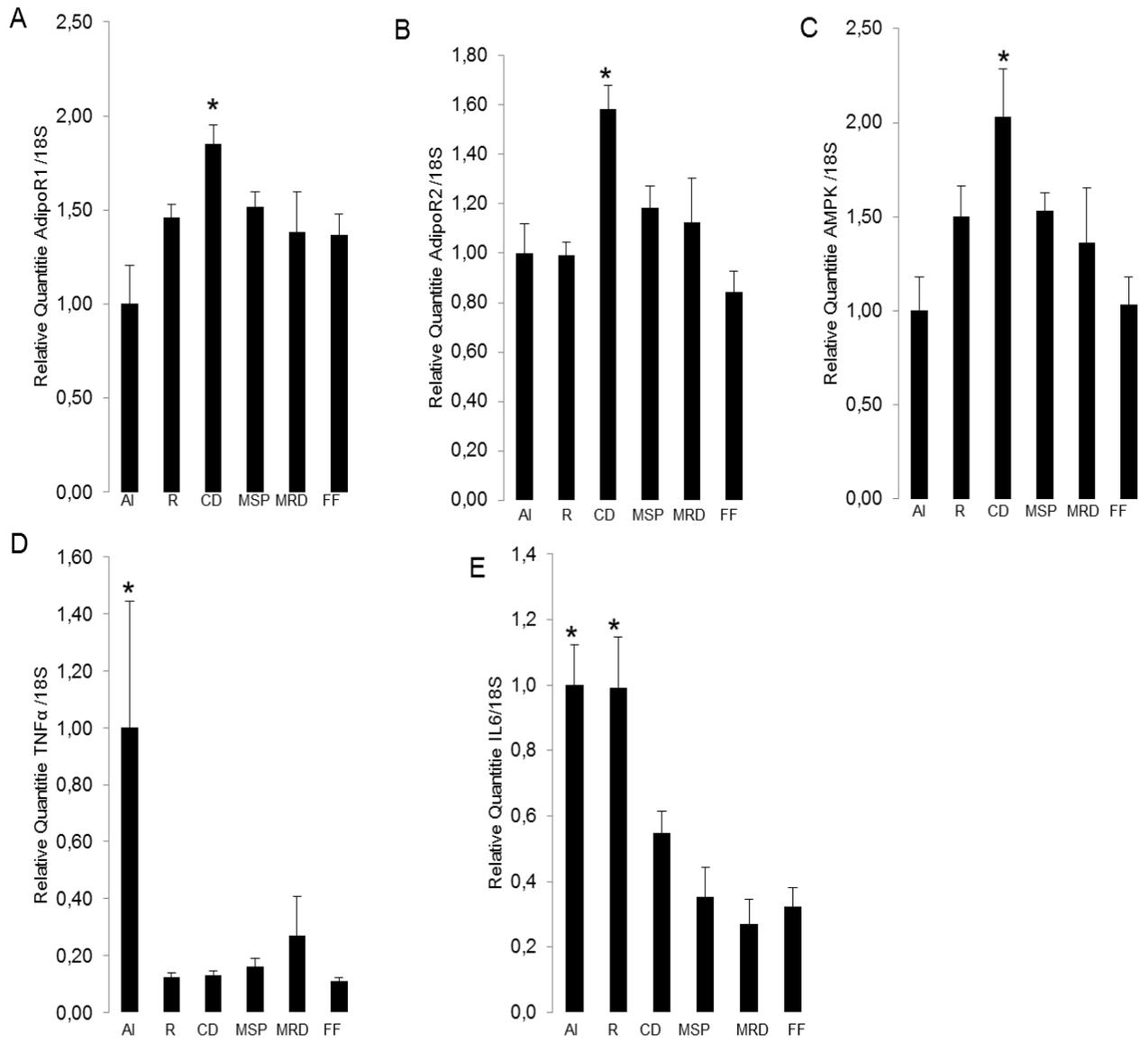
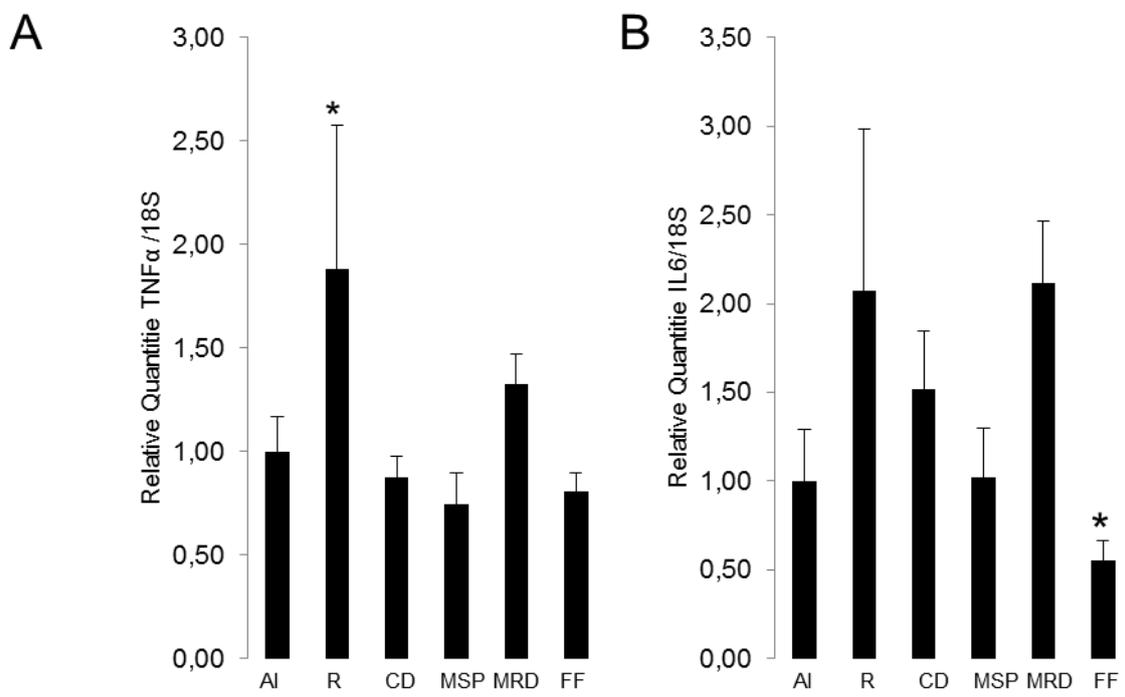


Figure 8





Discussion générale

4. DISCUSSION GENERALE

La dénutrition protéino-énergétique résulte d'un déséquilibre entre les apports et les besoins protéino-énergétiques de l'organisme. Ce déséquilibre entraîne des pertes tissulaires, notamment musculaires, qui vont avoir des conséquences fonctionnelles délétères. Il s'agit d'une perte tissulaire (Raynaud-simon, 2007). De plus, la dénutrition va être d'autant plus préoccupante chez la personne âgée qu'elle entraîne ou aggrave un état de fragilité et donc de dépendance. Elle favorise la survenue de morbidités associée à une aggravation du pronostic des maladies sous-jacentes et à une augmentation de la fréquence des décès. La qualité de vie du sujet âgé en général dépend principalement de son état nutritionnel et des carences protéiques. Notre étude est focalisée sur un modèle de dénutrition de 12 semaines chez le rat âgé afin de mimer la malnutrition des personnes âgées.

Contrairement aux effets néfastes de la dénutrition liée au vieillissement, la restriction alimentaire du sujet adulte et âgé constitue un modèle d'étude important du fait de l'impact « médiatique » de ce processus jugé bénéfique. En effet, le principe de restriction calorique bénéfique consiste en une réduction de 15 à 40% de l'apport calorique quotidien, sans causer de déficience en nutriments. Il s'agit de la méthode non génétique la plus efficace pour augmenter la longévité chez les modèles animaux. La première observation a été faite dans les années 1930, où une diminution de la prise alimentaire, par comparaison à des animaux nourris ad libitum, a entraîné une augmentation de 42% de la longévité chez des rats (McCay, 1935). L'augmentation de la longévité peut atteindre jusqu'à 50% chez les rats (Yu, 1982). La restriction calorique retarde donc l'apparition de nombreuses maladies associées au vieillissement, soit les maladies cardiovasculaires (Johnson, 1997), rénales (Fernandes, 1984), neurodégénératives (Mattson, 2003; Maswood, 2004) et l'apparition de tumeurs (Sarkar, 1982, Engelman, 1990). Elle engendre différents changements métaboliques dans les organes périphériques, incluant une amélioration de la sensibilité à l'insuline (Dhahbi, 2001; Lane, 1999). Par ailleurs, la restriction calorique, au niveau du cerveau, montre des effets neuroprotecteurs dans plusieurs conditions. Elle améliore significativement la performance aux tests d'apprentissage et de mémoire chez les rongeurs âgés (Stewart, 1989), ainsi que les fonctions locomotrices de la maladie de Parkinson (Maswood, 2004) et diminue les crises épileptiques dans plusieurs modèles de rongeurs (Greene, 2001, Mantis, 2004).

Bien que les effets bénéfiques de la restriction calorique soient connus depuis près de 80 ans, les mécanismes d'action au niveau moléculaire ne sont pas encore clairs. Plusieurs

4. DISCUSSION GENERALE

mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets neuroprotecteurs de la restriction calorique :

- 1- Un effet antioxydant par la diminution de la production d'ERO au niveau du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale (Sohal, 1994, Merry, 2002).
- 2- Une augmentation des niveaux d'ATP et de la biogenèse mitochondriale (Lin, 2002).
- 3- Une diminution de l'activité de facteurs pro-apoptotiques tels que la protéine p53 et forkhead transcription factor (FOXO-3). La restriction calorique augmente, en fait, l'expression de Sirt1, une enzyme faisant partie de la famille des sirtuines, qui inhibe plusieurs facteurs pro-apoptotiques (Maalouf, 2009).
- 4- Une augmentation des niveaux facteurs neurotrophiques, tels que la neurotrophine-3, le glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) et le brain-derived neurotrophic factor (BDNF), favorise le processus de neurogenèse (Park, 2011). Cependant, aucune des théories proposées n'intègre tous les effets de la restriction calorique. Ceci est probablement dû à l'étendue des effets de la restriction calorique qui génère aussi bien des changements métaboliques et endocriniens que des changements dans les processus d'apoptose et de survie cellulaire.

Toutes les modifications bénéfiques d'une restriction alimentaire « raisonnée » et réfléchie qui sont rapportées ci-dessus concernent essentiellement des individus en bonne santé. Cependant l'objectif dans ce protocole, en introduisant une restriction calorique importante sur notre modèle de vieux rats, est de mimer la dénutrition observée chez le sujet âgé, dénutrition qui n'a rien de bénéfique mais qui induit en général l'apparition de nombreux troubles et fragilise le sujet.

La malnutrition liée au vieillissement est désormais considérée comme un problème de santé majeur car la proportion des personnes âgées ne cesse d'augmenter au cours de ces dernières décennies et à travers le monde. En effet, plusieurs études montrent que la malnutrition augmente avec l'âge et est associée à plusieurs facteurs tels que: la fragilité, l'insuffisance de contrôle de l'homéostasie énergétique, la diminution de la masse musculaire et de la prise alimentaire (Nieuwenhuizena, 2010). La manipulation nutritionnelle, au cours du vieillissement, est maintenant considérée comme l'une des solutions prometteuses pour surmonter, ou atténuer, de nombreux troubles et maladies liées au vieillissement telles que l'athérosclérose, les cancers, le diabète, la sarcopénie, le syndrome métabolique l'inflammation et l'obésité. Les interventions nutritionnelles qui ont été largement étudiées

4. DISCUSSION GENERALE

chez les personnes âgées s'intéressent notamment à la qualité de ces protéines. Ces interventions ont pour objectif de favoriser la synthèse des protéines musculaires dans un but de ralentir la sarcopénie (Guillet, 2004; Katsanos, 2005; Paddon-Jones, 2004). Malgré le nombre important d'études, les mécanismes impliqués dans la perte progressive de la masse musculaire maigre au cours du vieillissement ne sont pas encore clairement élucidés et les recherches sur le rôle des protéines dans l'alimentation pour pallier à ce phénomène fait également l'objet de nombreuses études. Un intérêt particulier a porté également sur le rôle des glucides et des lipides en raison de troubles métaboliques associés à ces macronutriments tels que la résistance à l'insuline, le diabète de type 2 et l'obésité (García-San Frutos, 2012). Par ailleurs, la résistance à l'insuline est également considérée comme un facteur aggravant de la perte de mémoire et des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (Paz-Filho, 2008; Cardoso, 2009). Ainsi, rétablir l'insulinosensibilité, chez les sujets âgés contribuerait à retarder l'apparition de certains troubles liés au vieillissement tels que les troubles alimentaires, l'inflammation et le déclin cognitif. Des interventions nutritionnelles pourraient permettre l'ajustement correct en terme qualitatif et quantitatif des protéines et lipides dans l'alimentation et améliorerait la réponse à l'insuline, l'homéostasie énergétique et l'état inflammatoire du sujet âgé (Akinkuoliea, 2011; Volpi, 2013; Chung, 2009). Un régime alimentaire supplémenté en AGPI n-3 (huile de poisson) améliore la réponse à l'insuline et réduit les facteurs pro-inflammatoires tel que l'IL6 chez les personnes âgées (Li, 2014; Taouis, 2002; Cancelas, 2007; Hirabara, 2013).

En dépit des études qui tentent de réduire les phénomènes de malnutrition chez les personnes âgées par des suppléments nutritionnelles (Dangin, 2003; Pfeifer, 2009; Morley, 2010), il reste également à trouver des solutions plus naturelles et mieux adaptées. Ces études ne peuvent être réalisées dans un premier temps que sur des modèles animaux tel que le rat sur lequel peuvent être étudiés différentes combinaisons d'apports en protéines, lipides et micronutriments (vitamine D).

Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer d'une part l'impact de la restriction alimentaire et à évaluer le potentiel de différentes formules de réalimentation, dont celles contenant un mélange de haute teneur en protéines solubles du lait, associée à un mélange lipidique contenant de la matière grasse laitière, du colza (50/50), du DHA et enrichie en vitamine D, sur différents paramètres métaboliques, inflammatoires et endocriniens. Nous

4. DISCUSSION GENERALE

évaluerons d'abord les effets sur la composition en acides gras du plasma sanguin, des globules rouges et du cerveau. Nous étudierons aussi les effets de ces régimes sur la sensibilité hépatique à l'insuline et sur le contrôle de l'homéostasie énergétique.

La première partie de ce travail de thèse nous a amené à mimer la situation des personnes âgées souffrant de malnutrition. Pour ce faire, nous avons soumis pendant 12 semaines des rats mâles Wistar âgés (20 mois) à une restriction alimentaire (50%), mais non déficient en ALA.

1/ Impact de la dénutrition pendant 12 semaines

1- 1/ Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire:

Nous avons utilisé des rats nourris âgés de 20 mois recevant un régime contenant du soja (régime 4% de matière grasse qui apporte 0.08g/j d'ALA). Le régime de restriction est de composition similaire mais la quantité globale réduite de 50% amène les apports en ALA à 0.04g/j. Comme prévu, une réduction significative du poids corporel a été observée.

Il a été montré chez l'homme que la malnutrition liée au vieillissement, obtenue par une diminution de la prise alimentaire, induit une perte de poids drastique accompagnée d'une réduction des performances physiques (Chevalier, 2008), entraînant une réduction de toutes les activités de la vie quotidienne (Oliveira, 2009) et des modifications de la vie domestique notamment au niveau de la capacité à se nourrir et de la mobilité (Kikafunda, 2005). La perte de poids observée pendant cette période de restriction est accompagnée d'une modification de la composition des acides gras (Sands, 2005; Harris, 2009)

Ce protocole chez l'animal nous a permis de valider, la durée de la période de restriction alimentaire (12 semaines) comme étant approprié pour une telle étude et de montrer que cette restriction était suffisante pour induire des changements majeurs en termes d'acides gras : une perte spécifique et conséquente des AGPI oméga-3 (ALA et dérivés LCn-3 du plasma, des GR et du cerveau).

Les besoins en AGPI oméga-3 (précurseur (ALA) et longues chaînes n-3 (DHA) sont essentiels à chaque étape de la vie : pendant le développement du cerveau chez le jeune, l'apprentissage, le vieillissement et pour limiter les dégâts liés aux pathologies associées (Barcelo-Coblijn, 2009). Le statut des personnes ou modèles animaux soumis à une malnutrition est souvent associé à des carences en protéines et en lipides de type omega3

4. DISCUSSION GENERALE

(Sands, 2005). En outre, nous avons montré que l'arachidonique (ARA) dérivé de la série n-6 pouvait être augmenté dans le plasma et les GR pendant la période de restriction majorant ainsi des marqueurs de l'inflammation exprimés entre autres par l'augmentation du ratio ARA/EPA (Acide eicosapentaénoïque: C20: 5n-3) pro-agrégant/pro-inflammatoire.

Ce processus de transformation des précurseurs en dérivés LC est obtenu sous l'action d'élongases et de désaturases, le LA et l'ALA se transformant respectivement en acide arachidonique (ARA) et en acide éicosapentaénoïque (EPA). Ces derniers sont les précurseurs des prostaglandines qui jouent un rôle important dans l'agrégation plaquettaire.

Du fait d'une diminution de l'activité des désaturases avec l'âge, les acides gras à longues chaînes sont également considérés comme essentiels chez le sujet âgé et doivent être souvent apportés en compléments préformés. Chez les personnes âgées, les apports alimentaires contiennent fréquemment trop d'acide linoléique et pas assez d'acide linoléique. Ceci, conjointement à la diminution de l'activité des désaturases, peut favoriser la carence en LC n-3 et par voie de conséquence l'hyperagrégation plaquettaire.

1-2/ Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique

Nous avons montré que la perte de poids pendant la période de restriction est accompagnée d'une diminution des taux plasmatiques de glucose, d'insuline et de leptine. La restriction alimentaire induit aussi l'augmentation de l'expression du récepteur à l'insuline dans le foie et le tissu adipeux. La perte de poids maintient la phosphorylation insulino-dépendante de Akt dans le foie. Cela serait dû à la réduction importante du niveau d'insuline plasmatique. Le vieillissement est caractérisé par une élévation des concentrations d'insuline plasmatique et une diminution de la tolérance au glucose, ayant pour conséquence l'augmentation des taux de glucose sanguin (Lee, 2005). Le diagnostic du diabète repose exclusivement sur les conséquences du métabolisme glucidique perturbé, à savoir l'hyperglycémie (Sacks, 2011).

Le vieillissement s'accompagne de profondes modifications de la composition corporelle et l'accumulation de masse grasse associées à une forte augmentation de la concentration plasmatique en leptine (Monroe, 2000). Il a été démontré que le vieillissement est caractérisé par une diminution des niveaux d'expression du récepteur de la leptine, au niveau hypothalamique, altérant ainsi la signalisation de la leptine (Fernandez-Galaz, 2001; Scarpace, 2001). Chez les rongeurs et l'humain âgés, le taux plasmatique de leptine est élevé (Ahren,

4. DISCUSSION GENERALE

1997; Li, 1997, Wang, 1999; Sanchez-Rodriguez, 2000), ce qui suggère que le vieillissement est lié à un état de résistance à leptine. Bien que le vieillissement soit caractérisé par une diminution de l'appétit (Engineer, 2012), il a été suggéré que l'hyperleptinémie observée chez les personnes âgées pourrait servir à contrebalancer la diminution de la sensibilité hypothalamique à la leptine (Scarpace, 2000).

Dans cette deuxième partie de l'étude nous avons également montré que la restriction alimentaire des rats âgés augmente la phosphorylation de la p38 MAP kinase hépatique ce qui altère la signalisation de l'insuline. En effet, la phosphorylation de p38MAP kinase inhibe la signalisation de l'insuline par la phosphorylation de IRS1/2 sur résidus sérines (Zarubin, 2005; Qi, 2013). De plus, la restriction alimentaire augmente l'expression du facteur TNF α (facteur pro-inflammatoire) au niveau de l'hypothalamus. Malgré les modifications observées on a constaté que l'insulino-sensibilité hépatique n'est pas modifiée par la restriction alimentaire. Cela viendrait du fait que la restriction s'est accompagné d'une baisse de l'insuline plasmatique ce qui a engendré en retour une augmentation des récepteurs à l'insuline. Comme l'insulino-sensibilité a été mesurée après un bolus d'insuline, il s'en suit que la phosphorylation d'Akt reste maintenue. Par ailleurs, la malnutrition protéino-énergétique aggrave la déficience immunitaire physiologique observée au cours du vieillissement et favorise les infections. En effet, Les taux circulants des cytokines inflammatoires tels que le TNF α , la protéine C-réactive (CRP), et l'IL-6, sont élevées chez les sujets âgés et obèses (Fried, 1998). La leptine joue également un rôle important dans l'inflammation du tissu adipeux (Mack, 2009). Les dysfonctionnements métaboliques du tissu adipeux, liés à l'âge, peuvent s'expliquer par la lipotoxicité et/ou par l'augmentation des facteurs pro-inflammatoires.

Au cours de cette première étape, nous avons donc validé un certain nombre de déficiences apparues au cours du protocole de dénutrition. Reste à démontrer quelles peuvent être les interventions nutritionnelles les plus appropriées pour y remédier : ceci est l'objet de notre deuxième partie de l'étude.

4. DISCUSSION GENERALE

Durant la deuxième partie de ce travail de thèse, nous avons évalué l'impact de la qualité nutritionnelle des apports lors de la réalimentation, notamment leur composition en protéines, en matières grasses et en vitamine D sur, la composition en acides gras (AG) du plasma, des globules rouges et du cerveau, le statut inflammatoire de ces tissus ainsi que la réponse à l'insuline et l'expression de gènes impliqués dans le contrôle de l'homéostasie énergétique chez ces rats souffrant de malnutrition. Dans cette étude nous avons cherché à déterminer quels composants de l'alimentation pourraient avoir un intérêt pour permettre une récupération rapide chez la personne âgée. Pour estimer l'impact relatif de chaque composant : protéines et lipides sur la composition lipidique de différents tissus (plasma, globules rouges, cerveau), nous avons étudié l'impact d'un mélange de matières grasses laitières/colza/DHA vs l'huile de soja couramment utilisée pour l'animal associée ou non à de la caséine ou des protéines solubles du lait à 14% ou 22% . La formule complète étant représentée par de la matière grasse du lait / colza / DHA associée à 22% protéines solubles du lait

2 / Impact de 4 semaines de réalimentation

Indépendamment de la qualité de l'alimentation, nous avons montré que tous les groupes réalimentés pendant 4 semaines présentent un gain de poids similaire et atteignent presque (80%) le poids corporel du groupe control (ad libitum) qui n'a pas été soumis à une restriction alimentaire suggérant ainsi que les compositions différentes des régimes de réalimentation n'influencent pas la reprise du poids des rats âgés dénutris. Nous avons également observé que la consommation des rats âgés renouris diminue après 8 jours de réalimentation. Une augmentation significative des niveaux plasmatiques d'insuline et de leptine dans tous les groupes réalimentés par rapport au groupe restreint. Le gain de poids serait dû au rétablissement des taux circulants d'insuline qui reviennent au niveau des animaux non restreints, cet effet anabolique de l'insuline serait médié par la voie IR/IRS1/PI3K/Akt (Le Plénier, 2012). La réalimentation par ces 4 régimes ne montre aucune différence sur l'état de phosphorylation d'Akt ou de la concentration plasmatique de l'insuline car les groupes réalimentés présentent une insulino-sensibilité similaire. Nos résultats sont presque similaires à ceux obtenus par d'autres équipes (Kimball, 2006 ; Le Plénier, 2012 ; Anthony, 2002; Crozier, 2005).

4. **DISCUSSION GENERALE**

2 – 1 / Impact de la qualité des protéines de réalimentation

2 -1- 1 / Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire:

L'étude de l'impact de la qualité des protéines lors de la réalimentation, montre que la caséine et les protéines solubles du lait associées aux mêmes lipides (6% d'huile de soja) et même niveau de vitamine D (1UI / g) ne modifient pas la capacité de restauration des AG de la série n-3 (ALA et DHA) et de la série n-6 (LA et ARA) au niveau tissulaire suggérant ainsi que la qualité des protéines de réalimentation n'influence pas la composition en AG. Contrairement aux glucides et lipides, les protéines ne sont pas stockées sous forme de réserve mobilisable. Ainsi, lorsque les apports extérieurs diminuent, le corps synthétise des protéines au détriment de certains tissus, essentiellement le tissu musculaire. Une diminution des apports en protéines est donc synonyme d'affaiblissement et de fragilisation de l'organisme. Chez les personnes âgées, les protéines du lactosérum stimulent la synthèse protéique après le repas alors que la caséine reste quasiment sans effet (Boirie, 1997). Un régime supplémenté en leucine, chez les sujets âgés, permet ainsi d'augmenter la vitesse de synthèse protéique et la restauration de son effet signal dans le muscle squelettique (Dardevet, 2000; 2002 ; Rieu, 2006). Il a été montré que la consommation des protéines solubles du lait avant un repas réduit la prise alimentaire, la glycémie, l'insulinémie et les marqueurs de risque cardiovasculaire chez les personnes en surpoids ou obèses (Akhavan, 2010a,b; Pal, 2010).

2 – 1- 1/ Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique:

Au niveau de notre étude, les animaux réalimentés avec le régime à base de protéine soluble du lait montre une down régulation des récepteurs impliqués dans le control de la prise alimentaire (IR, ObRb) et les régulateurs de l'homéostasie énergétique notamment AdipoR1, UCP2 et UCP3 dans l'hypothalamus. L'augmentation des UPCs pourrait refléter un mécanisme de protection contre l'installation de l'insulinorésistance (Chan, 2006) parce que ces protéines sont impliquées dans les phénomènes de production de chaleur par le découplage de la chaîne de respiration mitochondriale. Le principal effet de l'insuline sur l'anabolisme protéique résulterait de son action inhibitrice sur la protéolyse (Fukagawa, 1985; Gelfand, 1987; Biolo, 1993), qui semble maintenue dans une certaine mesure, chez la personne âgée (Boirie, 2001). Par ailleurs, l'insulino-résistance pourrait également affecter les capacités de réponse anabolique du muscle du sujet âgé (Boirie, 2005). L'effet de l'insuline

4. DISCUSSION GENERALE

sur la stimulation de la synthèse protéique musculaire est diminué chez le rat âgé par rapport aux rats adultes (Dardevet, 1994). Par ailleurs, nous avons montré que les animaux réalimentés avec les protéines solubles du lait présentaient une sensibilité plus faible à l'insuline au niveau hépatique mise en évidence par la mesure de la phosphorylation insulino-dépendante d'Akt. Cet effet est accompagné d'une down régulation des marqueurs pro-inflammatoires IL6 et TNF α par rapport au groupe restreint aux niveaux hypothalamique et hépatique. L'origine de l'état inflammatoire qui se développe avec l'âge reste encore hypothétique mais elle pourrait être le résultat d'une inflammation intestinale chronique par stimulation anormale des défenses immunitaires intestinales par les bactéries ou les aliments (allergies). Cependant, l'insuline régule le taux de synthèse des protéines dans les leucocytes des jeunes et des personnes âgées. De plus, les carences en insuline liées à l'hyperglycémie peuvent être un facteur important de la perturbation métabolique des cellules immunitaires chez le sujet âgé (Walrand, 2005).

2 – 2 / Impact de la qualité des lipides

2 -2- a / Sur la composition en acides gras (AG) et le statut inflammatoire:

Indépendamment de la qualité des protéines (14% de caséine) et de vitamine D, nous avons montré dans un premier temps que le groupe réalimenté avec le régime control restaure dans les différents tissus, les valeurs des AG de la série n-3 à des niveaux comparable aux contrôles, à l'exception du DHA. Les valeurs du DHA restent inférieures aux valeurs contrôles ou de dénutrition dans le cerveau, le plasma et les globules rouge (GR). La situation pro-inflammatoire évaluée par le ratio ARA/DHA reste plus élevée de +5% dans le cerveau alors qu'elle est rétablie aux valeurs contrôles dans le plasma et GR.

En revanche, nous avons montré que quatre semaines de réalimentation avec la formule contenant le mélange matière grasse laitière, colza et DHA, associé à de la caséine ou des protéines solubles du lait, restaure 1/ les valeurs de DHA du cerveau non restaurées par un régime contrôle de renutrition, 2/ augmente les valeurs des dérivés LCn-3 (EPA, DHA) à des niveaux supérieurs à ceux d'un régime contrôle de renutrition et à celles observées chez des rats âgés contrôles non dénutris. Cette augmentation s'accompagne d'une réduction des valeurs d'ARA, induisant une baisse drastique dans le plasma et les globules rouges du ratio ARA/EPA, un des marqueurs du statut pro-inflammatoire. Nous suggérons par conséquent, que l'utilisation du mélange MGLA/Colza/DHA en formule de renutrition permet une

4. DISCUSSION GENERALE

récupération rapide et meilleure en LCn3 notamment, le DHA du cerveau, du plasma et des GR, associée à une réduction du statut pro-inflammatoire.

L'augmentation du DHA dans les tissus peut s'expliquer logiquement par son apport direct sous forme d'acide gras préformé et directement utilisable ou incorporé. Pour les autres chaînes longues (EPA et à un degré moindre le DPA) l'augmentation observée pourrait s'expliquer soit par la rétro-conversion du DHA préformé apporté par le régime, soit par une meilleure bioconversion de l'ALA en EPA du fait d'un ratio plus favorable n-6/n-3 (LA/ALA) du colza (2.3 au lieu de 7 pour le soja), soit par une préservation de l'ALA liée la présence d'acides gras saturés à chaîne moyenne spécifiques de la MGLA qui sont facilement oxydés pour fournir de l'énergie et permettraient l'épargne du précurseur ALA pour rediriger son utilisation vers une bioconversion au lieu d'être lui-même oxydé. Les acides gras à courtes (C4 à C8) et moyennes chaînes (C10 à C14) de la matière grasse laitière ont la propriété d'être aisément oxydés dans les mitochondries du foie après avoir été ingérées (Curr and Harwood 1991; Decker 1996). Ils protégeraient de ce fait l'ALA de la dégradation et le rendrait plus disponible pour être utilisés dans les voies de désaturation et d'élongation des hépatocytes où l'activité spécifique de ces voies est élevée (Seaton 1986; Scalfi, 1991; Dulloo 1996). Cette hypothèse impliquerait que les acides gras de la série n-6 bénéficient également de cet effet d'épargne; ce n'est pas ce que nous avons observé; les contenus en acide arachidonique des tissus, le principal acide gras à longue chaîne produit à partir de son précurseur LA, ne semblant pas suivre cette logique dans les groupes nourris avec de la MGLA. Inversement, les contenus en ARA dans les globules rouges et le plasma étaient diminués parmi les rats âgés nourris avec le régime à base de MGLA (cerveau excepté). Cette observation n'est pas contradictoire avec notre hypothèse de l'épargne de l'ALA mais également de LA, si l'on considère la compétition pour les voies de désaturation et d'élongation entre les acides gras de la série n-3 et n-6, et qui s'exerce en faveur des n-3. Dans cette perspective, l'augmentation des AGPI-LC n-3 sur les n-6, traduit bien le potentiel supérieur de conversion de l'ALA sur le LA dans la situation de renutrition de notre protocole. Mais on peut également envisager l'hypothèse d'une inhibition directe de l'ARA en présence d'apport préformé de DHA qui a déjà été rapportée.

Par ailleurs, le groupe recevant la formule complète apportant 22% de protéines solubles du lait au lieu de 14% induit en un mois de renutrition des effets similaires au régime à base de mélange de lipides laitiers/Colza/ DHA seul. Les dérivés n-6 et n-3 sont augmentés par

4. DISCUSSION GENERALE

comparaison au régime ou l'utilisation des protéines reste à 14% sous forme de caséine. Cependant les ratios observés restent stables. Cette augmentation des dérivés pourrait être liée à la baisse importante de l'acide oléique qui est observée dans ce régime, sans que l'on puisse y trouver une justification connue. L'oléique étant un substrat aux delta6 desaturases au même titre que les familles omega6 ou omega3, sa diminution pourrait entraîner une redistribution de l'activité de celle-ci vers les 2 familles en question, redistribution qui semble se faire de façon « équitable » puisque les ratios ARA/DHA ne sont pas modifiés significativement. Finalement ce dernier régime de renutrition présente aussi un meilleur impact sur la restauration des valeurs de DHA, d'ALA et des dérivés LCn-3 du cerveau, plasma et les GR, à des niveaux bien supérieurs à ceux observés chez les contrôles par le soja. Ce régime, induit comme le précédent un statut pro-inflammatoire bien inférieur à celui observé généralement chez les vieux rats et pourrait donc présenter un intérêt très général en prévention au cours du vieillissement.

2-2-2/ Sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique:

Dans un second temps, nous avons montré que le groupe renutri avec la formule complète présente une diminution significative des niveaux plasmatiques d'insuline et une glycémie similaire à celle de tous les autres groupes réalimentés. Ces données indiqueraient une meilleure réponse à l'insuline. Plusieurs études suggèrent que la consommation de produits laitiers est associée à un moindre risque de diabète. En effet, les auteurs mettent en évidence que l'acide gras *trans* palmitoléique (C16:1 n-7), présent dans la matière grasse laitière, présente un impact bénéfique sur le métabolisme. Ils montrent, une diminution des taux plasmatiques de triglycérides, de la pression artérielle et de l'insulinémie à jeun (Mozaffarian, 2013). Les sujets ayant les concentrations plasmatiques en C15:0 les plus élevées ont un risque de maladies cardiovasculaires et d'accidents coronariens plus faible (De Oliveira, 2013). Par ailleurs, la consommation de produits laitiers entiers est significativement et inversement associée au taux d'insuline et à l'indice d'insulino-résistance (HOMA-IR), après ajustement sur différentes variables (dont le calcium). Les personnes consommant des produits laitiers entiers au moins une fois par jour ont un taux d'insuline et un indice d'insulinorésistance significativement plus faibles que les autres. Aucune association avec la glycémie n'est observée (Akter, 2013). Il est à noter que l'insuline et les oméga3 sont des cofacteurs métaboliques et la résistance à l'insuline a été démontrée chez les animaux recevant

4. DISCUSSION GENERALE

une alimentation appauvrie en AGPI-LC n-3 (Smit, 2000; Cancelas, 2007). En revanche il a été montré que la sensibilité à l'insuline chez les rats résistants est améliorée par un apport en omega3 (Taouis, 2002).

Cependant, les deux groupes consommant le mélange à base de matière grasse laitière/colza/DHA présentent une prise alimentaire plus élevée après le 22ième jour de réalimentation. Ce résultat est corrélé à une up régulation hypothalamique du neuropeptide orexigénique NPY. On peut émettre l'hypothèse que la qualité des lipides et notamment la matière grasse laitière aurait pu favoriser une meilleure appétence pour le régime.

Le groupe renutri avec la formule complète montre également une expression réduite de cytokines pro-inflammatoires IL6 dans l'hypothalamus. Ceci est compatible avec les résultats obtenus avec les analyses d'AG qui montrent une diminution des marqueurs de l'inflammation exprimés par les ratios ARA/LCn-3 ou ARA/EPA ou DHA selon les tissus. Cependant ces améliorations de ratios ont été obtenues avec les 2 régimes comportant le mélange MGLA/Colza/DHA alors que la baisse hypothalamique d'IL6 ne s'est exprimée que dans le dernier groupe comportant l'association avec une augmentation des protéines solubles du lait. Le lien est donc un peu plus difficile à établir, sauf à envisager une synergie entre ces 2 nutriments ou un lien avec la baisse de la quantité de sucres induite par l'augmentation des protéines. L'impact de l'augmentation des quantités de vitamine D dans cette dernière formule complète peut également être envisagé.

Par ailleurs, L'inflammation hypothalamique pourrait contribuer à l'altération du contrôle de la régulation de l'homéostasie énergétique (Meng, 2011). Ces effets bénéfiques observés dans le groupe renutri avec la formule complète sont dus probablement à la combinaison des protéines solubles du lait, matière grasse laitière associée à des AGP LC-oméga 3 (DHA) et de doses élevées de vitamine D. En effet, les protéines solubles du lait ont été décrites pour améliorer la réponse à l'insuline (Arciero, 2014). Les AGPI-LC n-3 (DHA) sont connus pour prévenir la résistance à l'insuline, l'inflammation et la neuro-inflammation (Kalupahana, 2011; Oliver, 2012; Figueras, 2011). Chez des rats soumis à des régimes à base de matières grasses laitières, une alimentation supplémentée en acide myristique, acide gras saturé dont la matière grasse laitière est particulièrement riche, augmente significativement l'EPA (dans le foie et le plasma) et le taux de DHA (dans le sang et le cerveau) des animaux (Legrand, 2010). Ces mêmes observations ont été confirmées dans une étude réalisée avec une

4. DISCUSSION GENERALE

matrice laitière (Chen, 2011). Les rats ayant consommé le régime beurre bénéficient d'une élévation significative de l'acide alpha-linolénique et de ses dérivés AGPI (n-3) dans plusieurs tissus (sang, foie, tissu adipeux). Les auteurs évoquent divers mécanismes susceptibles d'expliquer cet effet bénéfique de la matière grasse laitière sur la biodisponibilité des oméga3 tel que la présence d'acides gras saturés à chaîne moyenne - spécifiques de la MGLA et facilement dégradés pour fournir de l'énergie - permettrait l'épargne des précurseurs et dérivés à longue chaîne (Legrand, 2010; DU 2012, Delplanque, 2013). De plus, la supplémentation en vitamine D a été décrite pour réduire la réponse inflammatoire (Adzemovic, 2013), sa carence favorise le déclin cognitif (Keeney, 2013). Selon plusieurs auteurs, la déficience en vitamine D affecte principalement la musculature des membres inférieurs, laquelle est nécessaire pour l'équilibre postural et la marche (Glerup, 2000). Par ailleurs, un apport supplémentaire de vitamine D chez le sujet âgé améliore significativement les paramètres fonctionnels musculaires (Domingues-Faria, 2014). La vitamine D est non seulement capable de stimuler la synthèse protéique dans la cellule musculaire, mais également d'augmenter la quantité de récepteurs à l'insuline en provoquant une surexpression de son gène ainsi que de son état de phosphorylation. En termes mécanistiques, la vitamine D augmente l'effet stimulant de l'insuline et de la leucine sur une voie de régulation de l'initiation de la traduction protéique. Par conséquent, la vitamine D potentialise l'effet de l'insuline et de la leucine sur l'anabolisme protéique au sein de la cellule musculaire. L'effet de la vitamine D sur les gènes codant pour le récepteur de l'insuline pourrait en partie expliquer cette action (Salles, 2013 Rizzoli, 2014; Walrand, 2011b).

L'ensemble de ces résultats montre que le régime de réalimentation avec un mélange de matière grasse laitière associée au colza et DHA induit des modifications très favorables et rapides (4 semaines) sur les AG plasmatiques, les globules rouges et le cerveau chez des animaux préalablement dénutris et en situation pro-inflammatoire : augmentation des oméga3 et diminution des oméga6. Cependant une association avec des apports plus importants en protéines solubles du lait et en vitamine D permettent d'induire une amélioration supplémentaire par une baisse d'IL6 au niveau de l'hypothalamus.

L'amélioration obtenue par comparaison aux animaux contrôles non dénutris montre que ces formules pourraient être également utiles en prévention chez le sujet âgé normal en dehors de toute dénutrition pour une amélioration du vieillissement « en bonne santé»

A decorative horizontal border with a scroll-like appearance, featuring rounded ends and a slight shadow effect.

Conclusions & Perspectives

5. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

La malnutrition liée au vieillissement est désormais considérée comme un problème de santé majeur en raison de la proportion des personnes âgées qui ne cesse d'augmenter au cours des dernières décennies à travers le monde. Elle est accompagnée de plusieurs troubles et dysfonctionnements métaboliques, notamment la perturbation de l'homéostasie énergétique (caractérisée par l'installation de l'insulinorésistance), la fragilité, la diminution de la masse musculaire et les troubles de la réponse immunitaire. Il est donc important de proposer des solutions nouvelles pour prévenir ces troubles, les traiter et limiter leurs dommages. Dans ce contexte, la nutrition peut jouer un rôle important dans la prévention, et dans certains cas, le traitement de ces anomalies métaboliques.

La manipulation nutritionnelle visant à prévenir ou à limiter la dénutrition, au cours du vieillissement, est considérée comme l'une des solutions possibles pour atténuer ces troubles liés au vieillissement. Parmi les substances nutritives qui ont été largement étudiées, chez les personnes âgées, la composition en protéines (ou acides aminés), la qualité des lipides (AGPI n-3) et les vitamines. En dépit de ces études qui tentent de limiter et réduire la malnutrition, en adaptant l'alimentation à travers des suppléments nutritionnels, il serait également nécessaire d'étudier les meilleures combinaisons d'apports «naturels» en protéines et en lipides (quantité et qualité) ainsi qu'en micronutriments (vitamine D).

L'ensemble des travaux de cette thèse a pour objectif de déterminer, à partir de l'évaluation de l'impact de la dénutrition chez le rat âgé, le potentiel de différentes formules de réalimentation. Parmi ces régimes testés chez des vieux rats restreints, un régime apparaît comme le plus équilibré et le plus complet parce qu'il contient un mélange de haute teneur en protéines solubles de lait (PLS), associé à la fois à de la matière grasse laitière (MGLA) et à de l'huile de colza (ratio n-6/n-3 favorable), complétées par du DHA et enrichie en vitamine D.

La première partie de ce travail a permis d'évaluer cet impact sur la composition en acides gras (AG) du plasma, des globules rouges et du cerveau chez des rats âgés restreints ainsi que ses conséquences sur les marqueurs du statut inflammatoire. Cette étude montre, dans un premier temps, que la restriction alimentaire de trois mois chez le rat âgé, même en maintenant un apport en ALA non négligeable, induit une perte spécifique et conséquente des omega3 (ALA et dérivés LCn-3) alors que le dérivé ARA de la série n-6 est stable ou très

5. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

faiblement augmentée conduisant ainsi à une élévation de l'état pro-inflammatoire exprimé sous forme d'une augmentation du ratio ARA/LCn-3.

Dans un second temps, cette étude nous a permis de montrer qu'une réalimentation de quatre semaines chez des rats vieux restreints, notamment avec les formules contenant le mélange de lipides du lait, colza et DHA, associée à de la caséine ou des protéines solubles du lait restaure les valeurs plasmatiques des dérivés LCn-3 (EPA, DHA) à des niveaux supérieurs à ceux observés chez les groupes ayant reçu des lipides extraits du Soja. Ces résultats obtenus en quatre semaines de réalimentation ont conduit également à une augmentation des valeurs d'oméga3 (ALA et LCn-3) supérieures à celles observées chez l'animal âgé « normal » non dénutri. Ce résultat est associé à une réduction des valeurs de la série n-6 notamment l'ARA, connu pour ses propriétés pro-inflammatoires. Ces formules montrent pour la première fois qu'une régulation nutritionnelle de la situation pro-inflammatoire induite par une restriction alimentaire et exprimée sous la forme du ratio ARA/EPA ou ARA/LCn-3, peut être obtenue dans différents tissus (plasma, Globules rouges et cerveau). De plus l'utilisation de ce mélange lipidique qui a induit en phase de renutrition une réduction très importante du ratio pro-inflammatoire ARA/EPA dans le plasma et les globules rouges par rapport à celui observé chez les rats âgés bien nourris, pourrait être utilisé en dehors toute situation de dénutrition, à titre de protection « anti-vieillesse » et de prévention des pathologies métaboliques ou cardiovasculaires pour assurer un vieillissement « réussi ».

La deuxième partie de ce travail a permis de déterminer le même impact sur la réponse hépatique à l'insuline, la régulation de l'homéostasie énergétique et l'inflammation hypothalamique des rats âgés restreints. Nos résultats ont montré que, d'une part, la restriction alimentaire de trois mois entraînait une augmentation de l'expression du récepteur à l'insuline dans l'hypothalamus, le foie et le tissu adipeux, accompagnée d'une augmentation du facteur pro-inflammatoire TNF α dans l'hypothalamus. La réalimentation de quatre semaines, entraîne un gain de poids similaire et maintient l'insulinosensibilité hépatique. Nous avons également montré, pour la première fois, qu'une réalimentation avec les régimes comportant le mélange MGLA/colza/DHA, permettrait d'augmenter la prise alimentaire et de diminuer l'inflammation hypothalamique, notamment, avec la formule complète contenant un mélange de haute teneur en protéines solubles de lait, associée à un apport lipidique comportant à la fois de la matière grasse laitière et un apport en ALA (sous sa forme de l'huile de colza),

5. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

complétée par du DHA et enrichie en vitamine D. Notre étude est la première à suggérer qu'il pourrait y avoir un réel bénéfice d'une réalimentation avec un mélange de (PSL, MGLA, Colza, DHA et vitamine D).

Ces résultats laissent entrevoir la possibilité d'élaborer de nouvelles approches nutritionnelles afin de réduire les troubles et les dysfonctionnements liés au vieillissement induits par la malnutrition. En effet, la réalimentation avec la formule complète contenant un mélange de haute teneur en protéines solubles du lait, associée à un apport lipidique comportant à la fois de la MGLA et un apport en ALA sous sa forme la plus efficace (huile de colza ratio n-6/n-3 faible), complétée par du DHA et enrichie en vitamine D, testée dans cette étude, semble être une stratégie intéressante et efficace pour rétablir, au moins partiellement, le contrôle de l'homéostasie énergétique et la sensibilité à l'insuline et réduire l'inflammation.

Ces travaux ouvrent un certain nombre de perspectives et nécessitent de prolonger l'étude afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques des PSL, de la MGLA, du colza, du DHA et de la vitamine D. Des études supplémentaires, notamment à long terme, sont nécessaires pour confirmer le potentiel intéressant des PSL et de la MGLA en vue de déterminer le ou les mécanisme(s) qui sont responsables de l'effet préventif identifié dans la présente étude. En effet, à l'heure actuelle aucune étude publiée n'a évalué l'impact d'une réalimentation avec un mélange de protéines et de lipides d'origine laitière enrichie en vitamine D, chez le rat âgé dénutri.

D'un point de vue plus fondamental, il reste à comprendre comment la MGLA permet une meilleure bioconversion de l'ALA en ses dérivés à longues chaînes. Nous avons émis l'hypothèse d'un effet synergique avec les acides gras à courtes et moyennes chaînes qui induiraient un effet d'épargne oxydative en faveur de l'ALA, le rendant ainsi plus biodisponible pour sa conversion en dérivés supérieurs. Ceci reste toutefois à démontrer.

Le rôle des AGPI, comme médiateurs cellulaires, a été démontré dans plusieurs études. Ils peuvent agir directement sur des récepteurs nucléaires modifiant ainsi leur expression ou leur fonction. En effet, l'étude du rôle des récepteurs nucléaires en l'occurrence, les PPARs (Peroxisome Proliferator Activated Receptors) dans la régulation de la sensibilité à l'insuline

5. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

et du métabolisme du glucose et des lipides, pourrait représenter une voie de recherche intéressante. Il est possible que les effets bénéfiques observés sur l'insulinorésistance, puissent s'expliquer par la modulation de ces récepteurs qui sont régulateurs de la synthèse, de la mise en réserve et de l'oxydation des lipides. En outre, l'implication des PPARs dans la régulation des gènes de l'oxydation pourrait être suivie.

Plusieurs pistes de recherches restent à explorer pour déterminer l'impact d'une dénutrition et d'une réalimentation avec une formule complète bénéfique. Il serait intéressant pour compléter notre étude, d'analyser les conséquences sur le comportement, qui pourraient être évaluées, par la mesure de l'activité locomotrice et la réponse à l'apprentissage spatial chez les rats âgés restreints en comparaison avec ceux réalimentés avec la formule complète.

Ainsi, les protéines solubles de lait, la matière grasse laitière, le colza, DHA et vitamine D (seuls ou combinés), pourraient constituer une stratégie nutritionnelle efficace et innovante pour assurer un vieillissement «réussi».

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll or a ribbon, framing the text. The border is black and has a slight 3D effect with a shadow on the left side.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- A -

- Adzemovic** MZ, Zeitelhofer M, Hochmeister S, Gustafsson SA, Jagodic M (2013) Efficacy of vitamin D in treating multiple sclerosis-like neuroinflammation depends on developmental stage. *Exp Neurol.* 249:39-48.
- Ahren** B, Mansson S, Gingerich RL, Havel PJ. (1997) Regulation of plasma leptin in mice: influence of age, high-fat diet, and fasting. *Am J Physiol.* 273(1 Pt 2):R113–R120.
- Ahren** B. (2009) Beta- and alpha-cell dysfunction in subjects developing impaired glucose tolerance: outcome of a 12-year prospective study in postmenopausal Caucasian women. *Diabetes.* 58(3):726-31.7
- Akhavan** T, Luhovyy BL, Anderson GH (2010b) Effect of drinking compared with eating sugars or whey protein on short-term appetite and food intake. *Int J Obes (Lond).* 35(4):562-9.
- Akhavan** T, Luhovyy BL, Brown PH, Cho CE, Anderson GH (2010a) *Am J Clin Nutr.* 91(4):966-75. Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults.
- Akinkuoliea** AO, Ngwaa JS, Meigs JB, Djoussé L. (2011) Omega-3 polyunsaturated fatty acid and insulin sensitivity: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition;* 30: 702–70.
- Akter** S, Kurotani K, Nanri A, Pham NM, Sato M, Hayabuchi H, Mizoue T. (2013) Dairy consumption is associated with decreased insulin resistance among the Japanese. *Nutr Res.*33(4):286-92
- Alberti** KG, Zimmet PZ. (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association.* 15:539-53.
- Allen** JA, Halverson-Tamboli RA, Rasenick MM. (2007) Lipid raft microdomains and neurotransmitter signalling. *Nat Rev Neurosci.* 8(2):128-40.
- Anne Marie** R., Ferry M. (2003) le vieillissement de la population causes et impact socioéconomiques. *J Nutrition clinique et métabolique*, n°4 ; 16 :291.
- Anthony** JC, Yoshizawa F, Anthony TG, Vary TC, Jefferson LS & Kimball SR (2000) Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *J Nutr* 130, 2413-2419.
- Anthony** JC1, Reiter AK, Anthony TG, Crozier SJ, Lang CH, MacLean DA, Kimball SR, Jefferson LS (2002) Orally administered leucine enhances protein synthesis in skeletal muscle of diabetic rats in the absence of increases in 4E-BP1 or S6K1 phosphorylation. *Diabetes.* 51(4):928-36.
- Araki**, A. and H. Ito, (2009) Diabetes mellitus and geriatric syndromes. *Geriatrics & Gerontology International*, 9(2): p. 105-114.
- Arciero** PJ, Baur D, Connelly S, Ormsbee MJ (2014) Timed-daily ingestion of whey protein and exercise training reduces visceral adipose tissue mass and improves insulin resistance: the PRISE study. *J Appl Physiol.*117:1-10.
- Arendash** GW, Jensen MT, Salem N Jr, Hussein N, Cracchiolo J, Dickson A, Leighty R, Potter H. (2007) A diet high in omega-3 fatty acids does not improve or protect cognitive performance in Alzheimer's transgenic mice. *Neuroscience.* 26;149(2):286-302.
- Ariel** A, Serhan CN, (2007) Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation, *Trends Immunol*, 28(4):176-83
- Arita** M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman JN, Petasis NA, Blumberg RS, Serhan CN, (2005) Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from

omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 102(21):7671-6

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T and Matsuzawa Y. (1999) Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys. Res.* 257: 79-83.

Arnal MA, Mosoni L, Boirie Y (2000a) Protein turnover modifications induced by the protein feeding pattern still persist after the end of the diets. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278, E902-E909.

Arnal MA, Mosoni L, Boirie Y (2000b) Protein feeding pattern does not affect protein retention in young women. *J Nutr* 130, 1700-1704.

Arnal MA, Mosoni L, Boirie Y (2000b) Protein feeding pattern does not affect protein retention in young women. *J Nutr* 130, 1700-1704.

Arnault N, Astorg P, Aubert A (2006) Table de composition des aliments SU.VI.MAX. Paris : Editions INSERM/Economica, 182 p.

Arner P, (2003) The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol. Metab.* 14: 137-145.

Arner P, Bernard S, Salehpour M (2011) Dynamics of human adipose lipid turnover in health and metabolic disease. *Nature*. 478(7367):110–113.

Astorg P, Bertrais S, Laporte F (2007) Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J Clin Nutr*, 1-7.

- B -

Babault N, Deley G, Le Ruyet P, Morgan F, Allaert FA. (2014) Effects of soluble milk protein or casein supplementation on muscle fatigue following resistance training program: a randomized, double-blind, and placebo-controlled study. *J Int Soc Sports Nutr.* 11;11:36.

Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST (2003) Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion, *Proc Natl. Acad. Sci USA*, 100(4):1751-6

Baik H.W. and R.M. Russell, (1999) Vitamin B12 deficiency in the elderly. *Annual review of nutrition*, 19(1): p. 357-377.

Balage M, Averous J, Rémond D, Bos C, Pujos-Guillot E, Papet I, Mosoni L, Combaret L, Dardevet D. (2010) Presence of low-grade inflammation impaired postprandial stimulation of muscle protein synthesis in old rats. *J Nutr Biochem.* 21(4):325-31.

Balagopal P, Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA & Nair KS (1997) Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. *Am J Physiol* 273, E790-E800.

Balagopal P, Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA & Nair KS (1997b) Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. *Am J Physiol* 273, E790-E800.

Banks AS, Davis SM, Bates SH, Myers MG Jr (2000) Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. *J Biol Chem.* 275(19): 14563-72.

Banks WA, Coon AB, Robinson SM (2004 b) Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes.* 53(5): 1253–1260.

Banks WA, DiPalma CR, Farrell CL. (1999) Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. *Peptides.* 20(11):1341-5.

Banks WA. (2004 a) The many lives of leptin. *Peptides.* 25 (3): 331–338.

- Barceló-Coblijn** G, Kitajka K, Puskás LG, Högges E, Zvara A, Hackler L Jr, Farkas T (2003) Gene expression and molecular composition of phospholipids in rat brain in relation to dietary n-6 to n-3 fatty acid ratio, *Biochim Biophys Acta*, 1632(1-3):72-9
- Barceló-Coblijn** G, Murphy EJ (2009) Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog Lipid Res.* 48(6):355-74.
- Bastard** JP, Jardel C, Bruckert e, Blondy P, Capeau J, Laville M, Vidal H and Hainque B. (2000) Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85: 3338-3342.
- Bastard** JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, 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.
- Baumgartner** RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD. (1998) Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol.* 15;147(8):755-63.
- Baumgartner** RN, Stauber PM, McHugh D, Koehler KM, Garry PJ. (1995) Cross-sectional age differences in body composition in persons 60+ years of age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 50(6): M307-M316.
- Bazan** NG, (2009) Cellular and molecular events mediated by docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 signaling in photoreceptor cell survival and brain protection, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 81(2-3):205-11
- Bazan** NG, Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress, 2005, *Brain Pathol*, 15(2):159-66
- Bazan** NG. (1989) The metabolism of omega-3 polyunsaturated fatty acids in the eye : the possible role of docosahexaenoic acid and docosanoids in retinal physiology and ocular pathology. *Prog Clin Biol Res* 312 : 95-112.
- Beaudeau**, J.L. and Vasson, M.P Sources cellulaires des especes réactives de l'oxygènes in: Radicaux libres et stress oxydant Aspects biologiques et pathologiques. Coordonnateurs Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D. Editions Lavoisier. 2005, Paris, page: 45-86.
- Beaufrère** B (2002) Métabolisme des acides aminés chez l'homme normal. In Selam J-L, Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris: Flammarion Médecine-Sciences, pp. 93- 103.
- Behre**, C., Gummesson, A., Jernås, M., Lystig, T., Fagerberg, B., Carlsson, B., and Carlsson, L. (2007). Dissociation between adipose tissue expression and serum levels of adiponectin during and after diet-induced weight loss in obese subjects with and without the metabolic syndrome. *Metabolism* 56, 1022-1028.
- Benomar** Y, Berthou F, Vacher CM, Bailleux V, Gertler A, Djiane J, Taouis M. (2009) Leptin but not ciliary neurotrophic factor (CNTF) induces phosphotyrosine phosphatase-1B expression in human neuronal cells (SH-SY5Y): putative explanation of CNTF efficacy in leptin-resistant state. *Endocrinology.* 150(3):1182-91.
- Benomar** Y, Roy AF, Aubourg A, Djiane J, Taouis M (2005a) Cross down-regulation of leptin and insulin receptor expression and signalling in a human neuronal cell line. *Biochem J.* 388(Pt 3): 929-39.
- Benomar** Y, Wetzler S, Larue-Achagiotis C, Djiane J, Tomé D, Taouis M (2005b) In vivo leptin infusion impairs insulin and leptin signalling in liver and hypothalamus. *Mol Cell Endocrinol.* 242(1-2): 59-66.
- Berg** AH & Scherer PE. (2005) Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. *Circ. Res.* 96: 939-949.
- Berg** AH, Combs TP and Scherer PE. (2002) ACRP30/adiponectine: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 13: 84-89.

- Berg AH**, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. (2001) The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nature medicine*. 7(8):947-53.
- Berti, L**, Mosthaf, L., Kroder, G., Kellerer, M., Tippmer, S., Mushack, J., Seffer, E., Seedorf, K. and Haring, H. (1994) Glucose-induced translocation of protein kinase C isoforms in rat-1 fibroblasts is paralleled by inhibition of the insulin receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem* 269, 3381-6.
- Beugnet A**, Tee AR, Taylor PM & Proud CG (2003) Regulation of targets of mTOR (mammalian target of rapamycin) signalling by intracellular amino acid availability. *Biochem J* 372, 555-566.
- Biolo G & Wolfe RR** (1993) Insulin action on protein metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 7, 989-1005.
- Bjørbaek C**, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS (1999a) The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem*. 274(42): 30059-65.
- Blanchet D**, Debrand T, Dourgnon P, Laferrère A.(2007) vieillissement et retraite en Europe. *Insee*.
- Bloch-Damti, A.** and Bashan, N. (2005) Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 7, 1553-67.
- Blüher, M.**, Bullen, J.J., Lee, J., Kralisch, S., Fasshauer, M., Klötting, N., Niebauer, J., Schön, M., Williams, C., and Mantzoros, C. (2006). Circulating adiponectin and expression of adiponectin receptors in human skeletal muscle: associations with metabolic parameters and insulin resistance and regulation by physical training. *J Clin Endocrinol Metab* 91, 2310-2316.
- Blumberg JB**. Free radical theory of aging. *The Science of Geriatrics* NY. 2000.
- Boden G**, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. (1994) Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest*. 93(6):2438-46.
- Boden G**. Obesity, (2011) insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 18(2):139-43
- Bogdanski P**, Suliburska J, Szulinska M, Stepien M, Pupek-Musialik D, Jablecka A. (2012) Green tea extract reduces blood pressure, inflammatory biomarkers, and oxidative stress and improves parameters associated with insulin resistance in obese, hypertensive patients. *Nutr Res*. 32(6):421-7.
- Boirie Y**, Gachon P, Beaufrere B (1997) Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. *Am J Clin Nutr* 65, 489-495.
- Boirie Y**, Gachon P, Cordat N, Ritz P & Beaufrere B (2001a) Differential insulin sensitivities of glucose, amino acid, and albumin metabolism in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 638-644.
- Boirie Y**, Guillet C, Zangarelli A, Gryson C & Walrand S (2005) Deterioration of protein metabolism during ageing. *Nutr Clin Métabol* 19, 138-142.
- Boirie, Y.**, et al. (1996). Acute postprandial changes in leucine metabolism as assessed with an intrinsically labeled milk protein. *Am J Physiol* 271(6 Pt 1): E1083-91.
- Bokov A**, Chaudhuri A, Richardson A. (2004) The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech Ageing Dev*. 125 (10-11):811-26.
- Boura-Halfon S**, Zick Y. (2009) Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296(4):E581-91.
- Bouret SG** (2008b) Crossing the border: developmental regulation of leptin transport to the brain. *Endocrinology* 149(3): 875-6.
- Bourre JM**. (2004) Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J Nutr Health and Aging*. 3 : 163-74.
- Bourre JM**, Faivre-Bauman A, Dumont O, Nouvelot A, Loudes C, Puymirat J, Tixier-Vidal A. (1983) Effect of supplementation of culture media with polyunsaturated fatty

acids on the morphology and composition of cell cultures of fetal mouse brain. *C R Seances Acad Sci III*. 296(14):629-32.

Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. (1989) The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr*. 119(12):1880-92.

Bourre JM, Pascal G, Durand G, Masson M, Dumont O, Piciotti M (1984) Alterations in the fatty acid composition of rat brain cells (neurons, astrocytes, and oligodendrocytes) and of subcellular fractions (mitochondria and synaptosomes) induced by a diet devoid of n-3 fatty acids, *J Neurochem*, 43(2):342-8

Bourre JM. (2004) Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J Nutr Health Aging*. 8(3):163-74.

Brand-Miller, J. C. (2000). Insulin sensitivity predicts glycemia after a protein load. *Metabolism* 49(1): 1-5.

Brenna JT, (2002) Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 5(2) : 127-32

Brenna JT, Salem Jr N, Sinclair AJ, Cunnane SC (2009) α -linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 80(2-3):85-91

Breuil V., Euller-Ziegler L. (2004) Nutrition et vieillissement osseux- l'ostéoporose, Nutrition clinique et métabolisme. 212-218

Brutel C. (2002) La population de la France métropolitaine en 2050 : un vieillissement inéluctable. *Insee*. 57-71.

Bryant, N.J., Govers, R. and James, D.E. (2002) Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3, 267-77.

Buettner C, Poci A, Muse ED, Etgen AM, Myers MG, Jr., Rossetti L. (2006) Critical

role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell Metab*. 4 (1):49-60.

Buettner G. R. (2011) Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 11(4): 341-346.

Bullen, J.J., Blucher, S., Kelesidis, T., and Mantzoros, C. (2007). Regulation of adiponectin and its receptors in response to development of diet-induced obesity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292, E1079-1086.

Burcelin R, Cani PD, Knauf C (2007) Glucagon-like peptide-1 and energy homeostasis. *J Nutr* 137:2534S-2538S.

Burdge GC, Calder PC (2005) Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults, *Reprod Nutr Dev.*, 45(5):581-97

Burguera B, Couce ME, Curran GL, Jensen MD, Lloyd RV, Cleary MP, Poduslo JF. (2000) Obesity is associated with a decreased leptin transport across the blood-brain barrier in rats. *Diabetes*. 49(7):1219-23.

- C -

Caillet B, (2006) Age biologique: un concept actualisé au service de la lutte contre le vieillissement. *Rev- 2008 Biologie et Médecine*.

Calbet, J. A. and D. A. MacLean (2002). Plasma glucagon and insulin responses depend on the rate of appearance of amino acids after ingestion of different protein solutions in humans. *J Nutr* 132(8): 2174-82.

Calder PC, (2006) n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases, *Am J Clin Nutr*, 83:1505S-1519S

Cancelas J, Prieto PG, Villanueva-Penacarrillo ML, Zhang Y, Portois L, Sener A, Carpentier YA, Valverde I, MalaisseWJ. Glucose intolerance, associated to insulin resistance and increased insulin secretion in rats depleted in long-chain omega3 fatty acids. *Horm metab Res* 2007; 39: 823-5.

Capeau J. (2003) Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance. *Medecine sciences : M/S*. 19(8-9):834-9.

- Capeau, J.** (2005) Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulinorésistance. *Medecine/Sciences* 21, 34-39.
- Capel F, Prod'homme M, Bechet D, Taillandier D, Balage M, Attaix D & Combaret L** (2009) Lysosomal and proteasome-dependent proteolysis are differentially regulated by insulin and/or amino acids following feeding in young, mature and old rats. *J Nutr Biochem* 20, 570-576.
- Cardoso S, Correia S, Santos RX, Carvalho C, Santos MS, Oliveira CR, Perry G, Smith MA, Zhu X,** (2009) Insulin is a two-edged knife on the brain. *J Alzheimer Disease*.18:483-507.
- Cardoso S, Correia S, Santos RX, Carvalho C, Santos MS, Oliveira CR, Perry G, Smith MA, Zhu X, Moreira P.** Insulin is a two-edged knife on the brain.- *J Alzheimer Disease* 2009; 18: 483-507.
- Carpenter LR, Farruggella TJ, Symes A, Karow ML, Yancopoulos GD, Stahl N** (1998) Enhancing leptin response by preventing SH2-containing phosphatase 2 interaction with Ob receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95(11): 6061-6.
- Carter S, Caron A, Richard D, Picard F.** (2013) Role of leptin resistance in the development of obesity in older patients. *Clin Interv Aging*. 8:829-44.
- Cartwright MJ, Tchkonina T, Kirkland JL.** (2007) Aging in adipocytes: potential impact of inherent, depot-specific mechanisms. *Exp Gerontol*. 42(6):463-471.
- Carvalho JB, Ribeiro EB, Folli F, Velloso LA, Saad MJ** (2003) Interaction between leptin and insulin signaling pathways differentially affects JAK-STAT and PI 3-kinasemediated signaling in rat liver. *Biol Chem*. 384(1): 151-9.
- Carvalho JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Brenelli SL, Carvalho CR, Leite A, Velloso LA, Gontijo JA, Saad MJ** (2001) Insulin modulates leptin-induced STAT-3 activation in rat hypothalamus. *FEBS Lett*. 500(3): 119-24
- Carvalho JB, Torsoni MA, Ueno M, Amaral ME, Araújo EP, Velloso LA, Gontijo JA, Saad MJ** (2005) Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obes Res*. 13(1): 48-57.
- CDC,** (2011) National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, C.f.D.C.a.P. US Department of Health and Human Services, Editor.
- Chambon-Savanovitch C, Felgines C, Farges MC, Pernet P, Cezard J, Raul F, Cynober L, Vasson MP** (1999) Severe dietary restriction initiated in aged rats: evidence for poor adaptation in terms of protein metabolism and intestinal functions. *Eur J Clin Invest* 29, 504-511.
- Chan CB, Harper ME** (2006) Uncoupling proteins: role in insulin resistance and insulin insufficiency. *Curr Diabetes Rev*. 2(3):271-83.
- Chan TO, Rittenhouse SE, Tschlis PN.** (1999) AKT/PKB and other D3 phosphoinositideregulated kinases: kinase activation by phosphoinositide-dependent phosphorylation. *Annu Rev Biochem*. 68:965-1014. Review.
- Chen H, Wertheimer SJ, Lin CH, Katz SL, Amrein KE, Burn P, Quon MJ** (1997) Protein-tyrosine phosphatase PTP1B and syp are modulators of insulin-stimulated translocation of GLUT4 in tranfected rat adipose cells. *J Biol Chem*. 272(12): 8026-31.
- Chen HF, Su HM** (2012) Fish oil supplementation of maternal rats on an n-3 fatty acid-deficient diet prevents depletion of maternal brain regional docosahexaenoic acid levels and has a postpartum anxiolytic effect. *J Nutr Biochem*. 23(3):299-305.
- Chen J, Sadowski HB, Kohanski RA, Wang LH** (1997) Stat5 is a physiological substrate of the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 94(6): 2295-300.
- Chen JX, Tang YT, Yang JX,** (2008) Changes of glucocorticoid receptor and levels of CRF mRNA, POMC mRNA in brain of chronic immobilization stress rats, *Cell Mol Neurobiol*, 28(2):237-44

- Chen, Y., Lin, S., Lin, F., Wu, T., Tsao, C., Huang, P., Liu, P., Chen, Y., and Chen, J.** (2007). High glucose impairs early and late endothelial progenitor cells by modifying nitric oxide-related but not oxidative stress-mediated mechanisms. *Diabetes* 56, 1559-1568.
- Cheng A, Uetani N, Simoncic PD, Chaubey VP, Lee-Loy A, McGlade CJ, Kennedy BP, Tremblay ML** (2002) Attenuation of leptin action and regulation of obesity by protein tyrosine phosphatase 1B. *Dev Cell.* 2(4): 497-503.
- Cheng, Y.J.** (2013) Secular Changes in the Age-Specific Prevalence of Diabetes Among US Adults 1988–2010. *Diabetes care,*
- Chernoff R** (2006) Demographics of aging, in *Geriatric nutrition: The health professional's handbook*, Chernoff R, Editor. Jones and Barlett: Sudbury-Massachusetts. p. 1-13.
- Chernoff R.,** (2005) Micronutrient requirements in older women. *The American journal of clinical nutrition,* 81(5): p. 1240S-1245S.
- Chernoff, R** (1995) Effects of age on nutrient requirements. *Clinics in geriatric medicine,* 11(4).
- Chevalier, S., et al.,** The physical functional capacity of frail elderly persons undergoing ambulatory rehabilitation is related to their nutritional status. *The Journal of nutrition, health & aging,* 2008. 12(10): p. 721-726.
- Chevallier L** (2009) *Nutrition : principes et conseils 3ème édition*, Ed Masson.
- Cho, H., Mu, J., Kim, J.K., Thorvaldsen, J.L., Chu, Q., Crenshaw, E.B. 3rd, Kaestner, K.H., Bartolomei, M.S., Shulman, G.I. and Birnbaum, M.J.** (2001) Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB β). *Science,* 1728-31.
- Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leewenburgh C.** Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews* 2009, 8: 19-30.
- Clark BC, Manini TM** (2008) Sarcopenia \neq dynapenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63, 829-834.
- Cnop, M., Havel, P., Utzschneider, K., Carr, D., Sinha, M., Boyko, E., Retzlaff, B., Knopp, R., Brunzell, J., and Kahn, S.** (2003). Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 46, 459-469.
- Combaret L, Dardevet D, Bechet D, Taillandier D, Mosoni L & Attaix D** (2009) Skeletal muscle proteolysis in aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12, 37-41.
- Combaret L, Dardevet D, Rieu I, Pouch MN, Bechet D, Taillandier D, Grizard J & Attaix D** (2005) A leucine-supplemented diet restores the defective postprandial inhibition of proteasome-dependent proteolysis in aged rat skeletal muscle. *J Physiol* 569, 489-499.
- Commins SP, Watson PM, Padgett MA, Dudley A, Argyropoulos G, Gettys TW** (1999) Induction of uncoupling protein expression in brown and white adipose tissue by leptin. *Endocrinology* 140(1): 292-300.
- Cong LN, Chen H, Li Y, Zhou L, McGibbon MA, Taylor SI, Quon MJ** (1997) Physiological role of Akt in insulin-stimulated translocation of GLUT4 in transfected rat adipose cells. *Mol Endocrinol.* 11(13): 1881-90.
- Conquer JA, Tierney MC, Zecevic J, Bettger WJ, Fisher RH.** (2000) Fatty acid analysis of blood plasma of patients with Alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids.* 35(12):1305-12.
- Copeland KC, Colletti RB, Devlin JT & McAuliffe TL** (1990) The relationship between insulinlike growth factor-I, adiposity, and aging. *Metabolism* 39, 584-587.
- Corriere, M., N. Rooparinesingh, and R.R. Kalyani,** (2013) Epidemiology of Diabetes and Diabetes Complications in the Elderly:

An Emerging Public Health Burden. Current diabetes reports, p. 1- 9.

- Couce ME**, Green D, Brunetto A, Achim C, Lloyd RV, Burguera B. (2001) Limited brain access for leptin in obesity. *Pituitary*. 4(1-2):101-10. Review.
- Covinsky KE**, Martin GE, Beyth RJ, Justice AC, Sehgal AR, Landefeld CS. (1999) The relationship between clinical assessments of nutritional status and adverse outcomes in older hospitalized medical patients. *Journal of the American Geriatrics Society*. 47(5):532-8.
- Craparo A**, O'Neill TJ and Gustafson TA. (1995) Non-SH2 domains within insulin receptor substrate-1 and SHC mediate their phosphotyrosine-dependent interaction with the NPEY motif of the insulin-like growth factor I receptor. *J. Biol. Chem*. 270: 15639-15643.
- Crawford MA**, Bloom M, Cunnane S, Holmsen H, Ghebremeskel K, Parkington J, Schmidt W, Sinclair AJ, Broadhurst CL. (2001) Docosahexaenoic acid and cerebral evolution. *World Rev Nutr Diet*. 88:6-17.
- Cross DA**, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA (1995) Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 378(6559):785-9.
- Crozier SJ**, Kimball SR, Emmert SW, Anthony JC, Jefferson LS (2005) Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. *J Nutr*. 135(3):376-82.
- Cruz-Jentoft AJ**, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinková E, Vandewoude M, Zamboni M (2010) European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 39(4):412-23.
- Cung G**, (1995) précis de gériatrie. Édition ellipses. 40-52, 223,227
- Cunnane SC**, (2001) New developments in alpha-linoleate metabolism with emphasis on the importance of β -oxydation and carbon recycling, *World Rev. Nutr.*, 88 : 178-83
- Curr ML** and Harwood JL (1991) *Lipid Biochemistry: an Introduction*. ed 4. London, Chapman and Hall.
- Cusin I**, Zakrzewska KE, Boss O, Muzzin P, Giacobino JP, Ricquier D, Jeanrenaud B, Rohner-Jeanrenaud F (1998) Chronic central leptin infusion enhances insulin-stimulated glucose metabolism and favors the expression of uncoupling proteins. *Diabetes* 47(7):1014-9.
- Cuthbertson D**, Smith K, Babraj J, Leese G, Waddell T, Atherton P, Wackerhage H, Taylor PM & Rennie MJ. (2005). Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *Faseb J* 19, 422-424.
- D -**
- Danaei, G**, (2011) National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 27 million participants. *The Lancet*, 378(9785): p.31- 40.
- Dangin M**, Guillet C, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Bouteloup-Demange C, Reiffers-Magnani K, Fauquant J, Balleve O & Beaufrere B (2003) The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *J Physiol* 549, 635-644.
- Dardevet D**, Rieu I, Fafournoux P, Sornet C, Combaret L, Bruhat A, Mordier S, Mosoni L, Grizard J. (2003) Leucine: a key amino acid in ageing-associated sarcopenia? *Nutr Res*. 16(1):61-70.
- Dardevet D**, Sornet C, Attaix D, Baracos VE & Grizard J (1994) Insulin-like growth factor-1 and insulin resistance in skeletal muscles of adult and old rats. *Endocrinology* 134, 1475- 1484.
- Dardevet D**, Sornet C, Balage M & Grizard J (2000) Stimulation of in vitro rat muscle

- protein synthesis by leucine decreases with age. *J Nutr* 130, 2630-2635.
- Dardevet D, Sornet C, Bayle G, Prugnaud J, Pouyet C & Grizard J (2002)** Postprandial stimulation of muscle protein synthesis in old rats can be restored by a leucinesupplemented meal. *J Nutr* 132, 95-100.
- Dardevet D., Rémond D., Mosoni L. (2011)** Les protéines laitières : la source protéique à privilégier pour maintenir le capital musculaire des personnes âgées? *Innovations Agronomiques* 13 45-55.
- Davis RJ (1995)** Transcriptional regulation by MAP kinases. *Mol Reprod Dev.* 42(4): 459-67.
- de Boer, A, G.J. Ter Horst, and M.M. Lorist, (2012)** Physiological and psychosocial age-related changes associated with reduced food intake in older persons. *Ageing research reviews.*
- de Luca, C. and J. M. Olefsky (2008).** Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* 582(1): 97-105.
- De Meyts, P. and Whittaker, J. (2002)** Structural biology of insulin and IGF1 receptors: implications for drug design. *Nat Rev Drug Discov* 1, 769-83.
- de Oliveira CV, Funck VR, Pereira LM, Grigoletto J, Rambo LM, Ribeiro LR, Royes LF, Furian AF, Oliveira MS (2013)** Atorvastatin withdrawal elicits oxidative/nitrosative damage in the rat cerebral cortex. *Pharmacol Res.*71:1-8.
- Dean J1, Sharp P. (2004)** Intensive insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes. *Hosp Med.* 65 (5):288-92.
- Decker EA (1996).** The role of stereospecific saturated fatty acid positions on lipid nutrition. *Nutr Rev* 54(4 Pt 1): 108-10.
- Deepa, S., and Dong, L. (2009).** APPL1: role in adiponectin signaling and beyond. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296, E22-36.
- DeFronzo, R.A. Lilly (1988)** The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37, 667-87.
- Del Prato, S. (1999)** Measurement of insulin resistance in vivo. *Drugs* 58 Suppl 1, 3-6, 75-82.
- Delplanque B, Du Q, Agnani G, Le Ruyet P, Martin JC (2013)** A dairy fat matrix providing alpha-linolenic acid (ALA) is better than a vegetable fat mixture to increase brain DHA accretion in young rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 88(1):115-20.
- Dey DK, Rothenberg E, Sundh V, Bosaeus I, Steen B. (2001)** Body mass index, weight change and mortality in the elderly. A 15 y longitudinal population study of 70 y olds. *European journal of clinical nutrition.* 55(6):482-92.
- Dhabhi, J. M., Mote, P. L., et al. (2001)** Caloric restriction alters the feeding response of key metabolic enzyme genes. *Mech Ageing Dev* 122(10) 1033-1048.
- Djian P, Roncari AK, Hollenberg CH. (1983)** Influence of anatomic site and age on the replication and differentiation of rat adipocyte precursors in culture. *J Clin Invest.* 72(4):1200-1208.
- Domingues-Faria C, Chanet A, Salles J, Berry A, Giraudet C, Patrac V, Denis P, Bouton K, Goncalves-Mendes N, Vasson MP, Boirie Y, Walrand S (2014)** Vitamin D deficiency down-regulates Notch pathway contributing to skeletal muscle atrophy in old wistar rats. *Nutr Metab (Lond).* 30;11(1):47.
- Donath MY, Gross DJ, Cerasi E, Kaiser N. (1999)** Hyperglycemia-induced beta-cell apoptosis in pancreatic islets of *Psammomys obesus* during development of diabetes. *Diabetes.* 48:738-44.
- Dorrello NV, Peschiaroli A, Guardavaccaro D, Colburn NH, Sherman NE, Pagano M. (2006)** S6-K1- and β TRCP-mediated degradation promotes protein translation and cell growth. *Science* 314: 467-71.
- Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW (1999)** Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest.*103(2):253-9.

- E -

- Dreyer HC & Volpi E.** (2005). Role of protein and amino acids in the pathophysiology and treatment of sarcopenia. *Journal of the American College of Nutrition* 24, 140S-145S.
- Du Q, Martin JC, Agnani G, Pages N, Leruyet P, Carayon P, Delplanque B** (2012) Dairy fat blends high in α -linolenic acid are superior to n-3 fatty-acid-enriched palm oil blends for increasing DHA levels in the brains of young rats. *J Nutr Biochem.*23(12):1573-82.
- Dubé M.** (2004) Vieillir : réalités actuelles et perspectives futures. Bien vieillir malgré les aléas de la vie. *Psychologie Québec.* 24(3):15-2.
- Dulloo AG, Fathi M, Mensi N and Girardier L** (1996) Twenty-four-hour energy expenditure and urinary catecholamines of humans consuming low-to-moderate amounts of medium-chain triglycerides: a dose-response study in a human respiratory chamber. *Eur J Clin Nutr* 50(3):152-8.
- Dunning BE, Foley JE, Ahren B.** (2005) Alpha cell function in health and disease: influence of glucagon-like peptide-1. *Diabetologia.*48(9):1700-13.
- Dupont J1, Derouet M, Simon J, Taouis M.** (1998) Effect of nutritional state on the formation of a complex involving insulin receptor IRS-1, the 52 kDa Src homology/collagen protein (Shc) isoform and phosphatidylinositol 3'-kinase activity. *Biochem J.* 15;335 (p2):293-300.
- Dyall SC, Michael GJ, Michael-Titus AT.** (2010) Omega-3 fatty acids reverse age-related decreases in nuclear receptors and increase neurogenesis in old rats. *J Neurosci Res.* 1;88(10):2091-102.
- Dyall SC, Michael-Titus AT.** (2008) Neurological benefits of omega-3 fatty acids. *Neuromolecular Med.*;10(4):219-35.
- Dzielińska, Z., Januszewicz, A., Wiecek, A., Demkow, M., Makowiecka-Cieśla, M., Prejbisz, A., Kadziela, J., Mielniczuk, R., Florczak, E., Janas, J.** (2003). Decreased plasma concentration of a novel anti-inflammatory protein--adiponectin--in hypertensive men with coronary artery disease. *Thromb Res* 110, 365-369.
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ.** (2005) The metabolic syndrome. *Lancet.* 36: 1415-1428.
- Elias CF, Lee C, Kelly J, Aschkenasi C, Ahima RS, Couceyro PR, Kuhar MJ, Saper CB, Elmquist JK** (1998) Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron* 21(6): 1375-85.
- Elmquist JK, Bjørbaek C, Ahima RS, Flier JS, Saper CB** (1998) Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol.* 395(4): 535-47.
- Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D, Hilton D, Van Obberghen E** (2000) SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J Biol Chem.* 275(21):15985-91.
- Engelman, R. W., Day, N. K., et al.** (1990) Calorie consumption level influences development of C3H/Ou breast adenocarcinoma with indifference to calorie source. *Proc Soc Exp Biol Med* 193(1) 23-30.
- EngineerDR, GarciaJM.** (2012) Leptin in anorexia and cachexia syndrome. *Int J Pept.* 287457.
- Enriori PJ, Evans AE, Sinnayah P** (2007) Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. *Cell Metab.* 5(3):181-194.
- Escobar, J.** (2006). Regulation of cardiac and skeletal muscle protein synthesis by individual branched-chain amino acids in neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E612- 21.
- Estrada, D.E, Ewart, H.S., Tsakiridis, T., Volchuk, A., Ramlal, T., Tritschler, H. and Klip, A.** (1996) Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: participation of elements of the insulin signaling pathway. *Diabetes* 45, 1798-804.
- Evans, J.L, and Goldfine, I.D.** (2000) Alpha-lipoic acid : a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients

with type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2:401-13.

Evans, J.L, Maddux, B.A. and Goldfine, I.D. (2005) The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid. Redox Signal* 7:1040-1052.

Extier A, Langelier B, Perruchot MH, Guesnet P, Van Veldhoven PP, Lavielle M, Alessandri JM, (2010) Gender affects liver desaturase expression in a rat model of n-3 fatty acid depletion, *J. Nutr. Biochem.* 21(3):180-7

Extier A, Perruchot MH, Baudry C, Guesnet P, Lavielle M, Alessandri JM (2009) Differential effects of steroids on the synthesis of polyunsaturated fatty acids by human neuroblastoma cells, *Neurochem Int.*, 55(5):295-301

- F -

Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH, Jr., Murphy RC, Raetz CR, Russell DW, Seyama Y, Shaw W, Shimizu T, Spener F, van Meer G, VanNieuwenhze MS, White SH, Witztum JL and Dennis EA (2005). A comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res* 46(5): 839-61.

Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P and Bahouth SW. (2004) Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology.* 14: 52273- 52282.

Farooqi IS, Wangensteen T, Collins S, Kimber W, Matarese G, Keogh JM (2007) Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *The New England journal of medicine.* 18;356(3):237-47.

Farooqui AA, Horrocks LA (2006) Phospholipase A2-generated lipid mediators in the brain: the good, the bad and the ugly, *Neuroscientis*, 12(3):245-60

Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T (2007) Modulation of inflammation in brain: a matter of fat, *J Neurochem*, 101(3):577-99

Farooqui AA, Horrocks LA (2006) Phospholipase A2-generated lipid mediators in the brain: the good, the bad and the ugly. *Neuroscientis*, 12(3):245-60

Fasshauer M, Paschke R (2003) Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia.* 46: 1594-1603.

Feener EP, Backer JM, King GL, Wilden PA, Sun XJ, Kahn CR. (1993) White MF Insulin stimulates serine and tyrosine phosphorylation in the juxtamembrane region of the insulin receptor. *J Biol Chem.* 268(15): 11256-64.

Felgines C, Savanovitch C, Farges MC, Cynober L & Vasson MP (1999) Protein metabolism in rats during long-term dietary restriction: influence of aging. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 23, 32-37.

Feller SE. (2008) Acyl chain conformations in phospholipid bilayers: a comparative study of docosahexaenoic acid and saturated fatty acids. 2008. *Chem Phys Lipids.* 153 (1):76-80.

Fernandes, G. et Good, R. A. (1984) Inhibition by restricted-calorie diet of lymphoproliferative disease and renal damage in MRL/lpr mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81(19) 6144-6148.

Fernandez-Galaz C, Fernandez-Agullo T, Campoy F (2001) Decreased leptin uptake in hypothalamic nuclei with ageing in Wistar rats. *J Endocrinol.* 171(1):23-32.

Ferry M, (2007) *Nutrition de la personne âgée.* 3^o édition. Collection Abrégés de médecine. Issy-les-Moulineaux: Masson.

Figueras M, Olivan M, Busquets S, López-Soriano FJ, Argilés JM (2011) Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: improvement of the inflammatory status. *Obesity (Silver Spring).* 19(2):362-9.

Folch J, Pedros I, Patraca I (2012) Neuroprotective and anti-ageing role of leptin. *J Mol Endocrinol.* 49(3):R149-R156.

- Fotuhi M, Mohassel P, Yaffe K.** (2009) Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: a complex association. *Nat Clin Pract Neurol.* 5(3):140-52.
- Francischetti, E, Celoria, B, Duarte, S, da Silva, E, Santos, I, Cabello, P, and Genelhu, V**(2007) Hypoadiponectinemia is associated with blood pressure increase in obese insulin-resistant individuals. *Metabolism* 56, 1464-1469.
- Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, Toker A.** (1997) Direct regulation of the Akt protooncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Science*; 275 :665-668.
- Frid, A. H., et al.** (2005). Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. *Am J Clin Nutr* 82(1): 69-75.
- Fried LP, Young Y, Rubin G, Bandeen-Roche K** (2001) WHAS II Collaborative Research Group. Self-reported preclinical disability identifies older women with early declines in performance and early disease. *J Clin Epidemiol.* 54(9):889-901.
- Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS.** (1998) Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab.* 83(3):847-850.
- Friedman JM, Halaas JL.** (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* Oct 22;395 (6704):763-70.
- Frisardi V1, Panza F, Seripa D, Farooqui T, Farooqui AA.**(2011) Glycerophospholipids and glycerophospholipid-derived lipid mediators: a complex meshwork in Alzheimer's disease pathology. *Prog Lipid Res.* 50(4):313-30.
- Fruebis, J., Tsao, T., Javorschi, S., Ebbets-Reed, D., Erickson, M., Yen, F., Bihain, B., and Lodish, H.** (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 2005-2010.
- Frühbeck G, Aguado M, Gómez-Ambrosi J, Martínez JA** (1998) Lipolytic effect of in vivo leptin administration on adipocytes of lean and ob/ob mice, but not db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 250(1):99-102.
- Fujita S, Dreyer HC, Drummond MJ, Glynn EL, Cadenas JG, Yoshizawa F, Volpi E & Rasmussen BB** (2007) Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis. *J Physiol* 582, 813-823.
- Fujita S, Glynn EL, Timmerman KL, Rasmussen BB & Volpi E** (2009) Supraphysiological hyperinsulinaemia is necessary to stimulate skeletal muscle protein anabolism in older adults: evidence of a true age-related insulin resistance of muscle protein metabolism. *Diabetologia* 52, 1889-1898.
- Fujita S, Volpi E** (2006) Amino acids and muscle loss with aging. *J Nutr* 136, 277S-280S.
- Fukagawa NK, Minaker KL, Rowe JW, Goodman MN, Matthews DE, Bier DM, Young VR** (1985) Insulin-mediated reduction of whole body protein breakdown. Dose-response effects on leucine metabolism in postabsorptive men. *J Clin Invest.* 76(6):2306-11.
- Fülöp** (2007) Biologie de vieillissement, in *Précis pratique de gériatrie*, H.R. Arcand M, Editor. Edisem-Maloine: Montréal-Paris. p. 17-35.
- Funai K, Parkington JD, Carambula S & Fielding RA** (2006) Age-associated decrease in contraction-induced activation of downstream targets of Akt/mTor signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290, R1080-R1086.
- Funk CD** (2001) Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science.* 294(5548):1871-5
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y** (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin* 114(12):1752-61.

- G -

- Gabriely I**, Ma XH, Yang XM, Rossetti L, Barzilai N. (2002) Leptin resistance during aging is independent of fat mass. *Diabetes*. 51(4): 1016–1021.
- García-San Frutos M**, Fernández-Agulló T, Carrascosa JM, Horrillo D, Barrús MT, Oliveros E, Sierra J, Ros M. Involvement of protein tyrosine phosphatases and inflammation in hypothalamic insulin resistance associated with ageing: effect of caloric restriction. *Mech Ageing Dev* 2012; 133: 489-497.
- Garlick, P. J.**, et al. (1991). Influence of dietary protein intake on whole-body protein turnover in humans. *Diabetes Care* 14(12): 1189-98.
- Gaudichon, C.**, et al. (1999). Net postprandial utilization of [15N]-labeled milk protein nitrogen is influenced by diet composition in humans. *J Nutr* 129(4): 890-5.
- Gelfand RA**, Barrett EJ (1987) Effect of physiologic hyperinsulinemia on skeletal muscle protein synthesis and breakdown in man. *J Clin Invest*. 80(1):1-6.
- Gerbi A**, Zerouga M, Debray M, Durand G, Chanez C, Bourre JM. (1993) Effect of dietary alpha-linolenic acid on functional characteristic of Na⁺/K⁺-ATPase isoenzymes in whole brain membranes of weaned rats. *Biochim Biophys Acta* 1165 : 291-8.
- Gerbi A**, Zerouga M, Debray M, Durand G, Chanez C, Bourre JM. (1994) Effect of fish oil diet on fatty acid composition of phospholipids of brain membranes and on kinetic properties of Na⁺,K⁺-ATPase isoenzymes of weaned and adult rats. *J Neurochem* 62: 1560-9.
- Giner M**, Laviano A, Meguid MM & Gleason JR (1996) In 1995 a correlation between malnutrition and poor outcome in critically ill patients still exists. *Nutrition* 12, 23-29.
- Girard, C.** (2012) Le bilan démographique du Québec. Institut de la Statistique du Québec.
- Glerup H**, Mikkelsen K, Poulsen L, et al. 2000. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcif. Tissue Int.* 66: 419–424.
- Gnacińska M**, Małgorzewicz S, Stojek M, Łysiak-Szydłowska W and Sworcak K. (2009) Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Adv. Med. Sci.* 54: 150-157.
- Gong DW**, He Y, Karas M, Reitman M (1997) Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists, and leptin. *J Biol Chem.* 272(39): 24129-32.
- Gonzalez FJ** (2005) Getting fat: two new players in molecular adipogenesis. *Cell Metabol* 1:85-6.
- Goodpaster BH**, Krishnaswami S, Resnick H (2003) Association between regional adipose tissue distribution and both type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in elderly men and women. *Diabetes Care.* 26(2):372–379.
- Green ED**, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, Chua SC Jr, Leibel RL, Weissenbach J, Friedman JM (1995) The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res.* 5(1): 5-12.
- Greene, A. E.**, Todorova, M. T., et al. (2001) Caloric restriction inhibits seizure susceptibility in epileptic EL mice by reducing blood glucose. *Epilepsia* 42(11) 1371-1378.
- Greenlund LJ**, Nair KS (2003) Sarcopenia, consequences, mechanisms, and potential therapies. *Mech Ageing Dev* 124, 287-299.
- Gregerman RI.** (1994) Aging and hormone-sensitive lipolysis: reconciling the literature. *J Gerontol.* 49(4):B135–B139.
- Griffin ME**, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. 1999. *Diabetes.* 48(6):1270-4.
- Gual P**, Baron V, Lequoy V, Van Obberghen E (1998) Interaction of Janus kinases JAK-1 and JAK-2 with the insulin receptor and the insulin-like growth factor-1 receptor. *Endocrinology* 139(3): 884-93.

Gualillo O, Lago F, García M, Menéndez C, Señarís R, Casanueva FF, Diéguez C (1999) Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 140(11): 5149-53.

Guesnet P, Alessandri JM, Astorg P (2005) Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *Oléagineux, Corps gras et Lipides*.12, 333-43.

Guillaume, T, J. De Flines (2005) Diabetes mellitus in the elderly: epidemiological, pathophysiological and clinical aspects. *Revue médicale de Liège*, 60(5-6): p. 429.

Guillet C, Prod'homme M, Balage M, Gachon P, Giraudet C, Morin L, Grizard J & Boirie Y (2004a) Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans. *FASEB J* 18, 1586-1587.

Guillet C, Prod'homme M, Balage M, Gachon P, Giraudet C, Morin L, Grizard J, Boirie Y. Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans. *FASEB J* 2004; 18:1586-7.

Guo Z (2000) ALS-linked Cu/Zn-SOD mutation impairs cerebral synaptic glucose and glutamate transport and exacerbates ischemic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 20(3):463-8.

- H -

H A, S, (Haute Autorité de Santé) (2007) Clinical practice guidelines. Nutritional support strategy for protein-energy malnutrition in the elderly. Saint-Denis, France: HAS.

Hamazaki T, Itomura M, Sawazaki S, Nagao Y (2000) Anti-stress effects of DHA. *Biofactors*. 13(1-4):41-5.

Hamazaki T, Thienprasert A, Kheovichai K, Samuhaseneetoo S, Nagasawa T, Watanabe S (2002) The effect of docosahexaenoic acid on aggression in elderly Thai subjects--a placebo-controlled double-blind study. *Nutr Neurosci.* 5(1):37-41.

Harman D. (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of gerontology*, 11(3): 298-300.

Harris WS. (2009) The omega-3 index: from biomarker to risk marker to risk factor. *Curr atheroscler rep* 11(6):411-7

Hashimoto M, Hossain S (2011) Neuroprotective and ameliorative actions of polyunsaturated fatty acids against neuronal diseases: beneficial effect of docosahexaenoic acid on cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Pharmacol Sci.* 116(2):150-62.

Hashimoto M, Tozawa R, Katakura M, Shahdat H, Haque AM, Tanabe Y, Gamoh S, Shido O. (2011) Protective effects of prescription n-3 fatty acids against impairment of spatial cognitive learning ability in amyloid β -infused rats. *Food Funct.* 2(7):386-94.

Hébuterne X, Bermon S & Schneider SM (2001) Ageing and muscle: the effects of malnutrition, re-nutrition, and physical exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 4, 295-300.

Hébuterne X, Schneider S, Peroux JL & Rampal P (1997) Effects of refeeding by cyclic enteral nutrition on body composition: comparative study of elderly and younger patients. *Clin Nutr* 16, 283-289.

Heidland, A., Sebekova, K. and Schinzel, R (2001) Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis* 38, S100-6

Heude B, Ducimetiere P, Berr C (2003) Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes – The EVA Study. *Am J Clin Nutr* 77: 803-8.

Hileman SM, Pierroz DD, Masuzaki H, Bjørbaek C, El-Haschimi K, Banks WA, Flier JS (2002) Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology* 143(3): 775-83.

Hirabara SM, Folorunso A, Fiamoncini J, Lambertucci RH, Rodrigues CF Jr, Rocha

MS, Aikawa J, Yamazaki RK, Martins AR, Rodrigues AC, Carpinelli AR, Pithon-Curi TC, Fernandes LC, Gorrão R, Curi R. Fish oil supplementation for two generations increases insulin sensitivity in rats. *J Nutr Biochem* 2013; 24:1136-45.

Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K (2002) A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. Nov 21;420(6913):333-6.

Holden KF, Lindquist K, Tylavsky FA, Rosano C, Harris TB, Yaffe K (2009) Serum leptin level and cognition in the elderly: Findings from the Health ABC Study. *Neurobiol Aging*. 30(9):1483–1489.

Hooijmans CR, Kiliaan AJ (2008) Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *Eur J Pharmacol* 585:176-96.

Hotamisligil GS, Shargill NS and Spiegelman BM (1993) Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 259: 87-91.

Hotamisligil GS. (2000) Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of adipocyte. *Int. J. Obes*. 24: S23-S27

Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T and Matsuzawa Y (2000) Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 20: 1595-1599.

Houstis N, Rosen ED, Lander ES (2006) Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*. 13;440:944-8.

Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. 2006. *Nature*. Apr 13;440(7086):944-8.

Huang C, Thirone AC, Huang X, Klip A (2005) Differential contribution of insulin receptor substrates 1 versus 2 to insulin signaling and glucose uptake in 16

myotubes. *J Biol Chem*. 13;280 (19):19426-35

Hubbard, S.R (1997) Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *Embo J* 16, 5572-81.

Hughes VA, Roubenoff R, Wood M, Frontera WR, Evans WJ, Fiatarone Singh MA (2004) Anthropometric assessment of 10-y changes in body composition in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 80(2):475–482.

Hung MC, Shibasaki K, Yoshida R, Sato M, Imaizumi K (2001) Learning behavior and cerebral protein kinase C, antioxidant status, lipid composition in senescence-accelerated mouse : influence of a phosphatidylcholinevitamin B12 diet. *Br J Nutr* 86 : 163-71.

- I -

Iannuzzi-Sucich M, Prestwood KM, Kenny AM (2002) Prevalence of sarcopenia and predictors of skeletal muscle mass in healthy, older men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 57(12):M772-7.

Innis SM, Vaghri Z, King DJ (2004). n-6 Docosapentaenoic acid is not a predictor of low Invest 51(9): 2346-51.

Itani SI, Ruderman NB, Schmedier F, Boden G (2002) Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaBalpha. *Diabetes*. 51(7):2005-11.

- J -

Jacotot B., Campillo B (2003) Nutrition humaine, Paris, Ed Masson.

Jeandel C. (2005) Vieillesse et Santé. Les différents parcours du vieillissement. *Sève*.:25-35.

Jeevanandam M1, Shahbazian LM, Petersen SR (1999) Proinflammatory cytokine production by mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in trauma patients fed immune-enhancing enteral diets. *Nutrition*. 15(11-12):842-7.

Johnson AB, Argyraki M, Thow JC, Cooper BG, Fulcher G, Taylor R (1992) Effect of increased free fatty acid supply on glucose metabolism and skeletal muscle glycogen synthase activity in normal man. *Clin Sci (Lond)*.82(2):219-26.

Johnson, P. R., Stern, J. S (1997) Longevity in obese and lean male and female rats of the Zucker strain: prevention of hyperphagia. *Am J Clin Nutr* 66(4) 890-903.

Jubrias SA, Odderson IR, Esselman PC, Conley KE (1997) Decline in isokinetic force with age: muscle cross-sectional area and specific force. *Pflugers Arch*. 434(3):246-53.

- K -

Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., and Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 116, 1784-1792.

Kahn CR. Banting Lecture (1994) Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes. *Diabetes*. 43(8):1066-84.

Kalmijn S, Feskens EJ, Launer LJ, Kromhout D (1997) Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and cognitive function in very old men. *Am J Epidemiol*. 1;145(1):33-41.

Kalmijn S, Feskens EJ, Launer LJ, Kromhout D. (1997b) Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and cognitive function in very old men. *Am J Epidemiol* 145 : 33-41.

Kalmijn S, Launer LJ, Ott A, Witteman JC, Hofman A, Breteler MM (1997a) Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 42: 776-82.

Kalupahana NS, Claycombe KJ, Moustaid-Moussa N (2011) (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. *Adv Nutr*. 2(4):304-16.

Kamata H, Honda S, Maeda S, Chang L, Hirata H, Karin M (2005) Reactive oxygen species promote TNF α -induced death

and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell*. Mar 11;120(5):649-61.

Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, Kawamori D, Matsuoka TA, Matsuhisa M (2004) Possible novel therapy for diabetes with cell-permeable JNK-inhibitory peptide. *Nature medicine*. 10(10):1128-32.

Kaneto H, Xu G, Fujii N, Kim S, Bonner-Weir S, Weir GC (2002) Involvement of c-Jun Nterminal kinase in oxidative stress-mediated suppression of insulin gene expression. *J Biol Chem*. 16;277(33):30010-8.

KapellerR, CantleyLC(1994) Phosphatidylinositol 3-kinase. *Bioessays*.16: 565-576.

Karagiannides I, Thomou T, Tchkonina T (2006) Increased CUG triplet repeat-binding protein-1 predisposes to impaired adipogenesis with aging. *J Biol Chem*. 281 (32):23025–23033.

Karihtala, P. and Soini, Y (2007) Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Apmis* 115, 81-103.

Kaszubska W, Falls HD, Schaefer VG, Haasch D, Frost L, Hessler P, Kroeger PE, White DW, Jirousek MR, Trevillyan JM (2002) Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates leptin signaling in a hypothalamic cell line. *Mol Cell Endocrinol*.195(1-2): 109-18.

Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A & Wolfe RR (2006) A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291, E381-E387.

Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A, Wolfe RR. Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 1065-73.

Keeney JT1, Förster S, Sultana R, Brewer LD, Latimer CS, Cai J, Klein JB, Porter NM, Butterfield DA (2013) Dietary vitamin D

deficiency in rats from middle to old age leads to elevated tyrosine nitration and proteomics changes in levels of key proteins in brain: implications for low vitamin D-dependent age-related cognitive decline. *Free Radic Biol Med.* 65:324-34.

Kelly L, Grehan B, Chiesa AD, O'Mara SM, Downer E, Sahyoun G, Massey KA, Nicolaou A, Lynch MA (2011) The polyunsaturated fatty acids, EPA and DPA exert a protective effect in the hippocampus of the aged rat. *Neurobiol Aging.* 32(12):2318.e1-15.

Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 89(6):2548–2556.

Kidd PM. (1999) A review of nutrients and botanicals in the integrative management of cognitive dysfunction. *Altern Med Rev* 4 : 144-61.

Kido Y, Nakae J, Accili D. Clinical review 125: (2001) The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(3):972-9.

Kikafunda, J. and F. Lukwago, Nutritional status and functional ability of the elderly aged 60 to 90 years in the Mpigi district of central Uganda. *Nutrition,* 2005. 21(1): p. 59-66.

Kile BT, Alexander WS (2001) The suppressors of cytokine signalling (SOCS). *Cell Mol Life Sci.* 58(11): 1627-35.

Kim HY, Akbar M, Kim YS (2010) Phosphatidylserine-dependent neuroprotective signalling promoted by docosahexaenoic acid Prostaglandins. *Leukot Essent Fatty Acids,* 82(4 6):165-72

Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M (2001) Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* Jun 19;98(13):7522-7.

Kim, K.S (2012) Management of type 2 diabetes mellitus in older adults. *Diabetes & metabolism journal,* 36(5): 336-344.

Kimball SR & Jefferson LS (2006) New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *Am J Clin Nutr* 83, 500S-507S.

Kirkland JL, Dax EM (1984) Adipocyte hormone responsiveness and aging in the rat: problems in the interpretation of aging research. *J Am Geriatr Soc.* 32(3):219–228.

Kirkland JL, Hollenberg CH, Gillon WS (1990) Age, anatomic site, and the replication and differentiation of adipocyte precursors. *Am J Physiol.* 258 (2 Pt 1):C206–C210.

Kirkland JL, Tchkonina T, Pirtskhalava T, Han J, Karagiannides I (2002) Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? *Exp Gerontol.* 37(6):757–767.

Kitajka K, Puskás LG, Zvara A, Hackler L Jr, Barceló-Coblijn G, Yeo YK, Farkas T (2002) The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 5;99(5):2619-24.

Klippel A, Kavanaugh WM, Pot D, Williams LT (1997) A specific product of phosphatidylinositol 3-kinase directly activates the protein kinase Akt through its pleckstrin homology domain. *Mol Cell Biol.* 17: 338-344.

Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA (1996) Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J Biol Chem.* 271(49): 31372-8.

Konrad, D, Somwar, R., Sweeney, G., Yaworsky, K., Hayashi, M., Ramlal, T. and Klip, A (2001) The antihyperglycemic drug alpha-lipoic acid stimulates glucose uptake via both GLUT4 translocation and GLUT4 activation: potential role of p38 mitogen-activated protein kinase in GLUT4 activation. *Diabetes* 50, 1464-71.

Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E, Roka R and Scherthaner G (2003) Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 1042-1047.

- Koua D, Cerutti L** (2009) PeroxiBase: a database with new tools for peroxidase family classification. *Nucleic acids research*, 37(Database issue): D261-266.
- Krebs DL, Hilton DJ** (2001) SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. *Stem Cells*. 19(5): 378-87.
- Krebs DL, Hilton DJ** (2003) A new role for SOCS in insulin action. *Suppressor of cytokine signaling*. *Sci STKE*. 2003(169): PE6.
- Kubaszek A, Pihlajamäki J, Komarovski V, Lindi V, Lindström J, Eriksson J, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M** (2003) Promoter polymorphisms of the TNF-alpha (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*. 52(7):1872-6.
- Kuk JL, Saunders TJ, Davidson LE, Ross R** (2009) Age-related changes in total and regional fat distribution. *Ageing Res Rev*. 8(4):339-348.
- Kuwert T, Lange HW, Langen KJ, Herzog H, Aulich A, Feinendegen LE** (1990) Cortical and subcortical glucose consumption measured by PET in patients with Huntington's disease. *Brain*. 113 (Pt 5):1405-23.
- Kyriakis JM, App H, Zhang XF, Banerjee P, Brautigan DL, Rapp UR, Avruch J** (1992) Raf-1 activates MAP kinase-kinase. *Nature* 358(6385): 417-21.
- L -**
- Labrousse VF, Nadjar A, Joffre C, Costes L, Aubert A, Grégoire S, Bretillon L, Layé S** (2012) Short-term long chain omega3 diet protects from neuroinflammatory processes and memory impairment in aged mice. *PLoS One*. 7(5):e36861.
- Lacquemant C, Vasseur F, Leprêtre F, Froguel P** (2003) Adipocytokins, obesity and development of type 2 diabetes. *Med Sci (Paris)*. 19(8-9):809-17.
- Lafontan, M., and Viguerie, N.** (2006). Role of adipokines in the control of energy metabolism: focus on adiponectin. *Curr Opin Pharmacol* 6, 580-585.
- Lai, K.M. and Pawson,T** (2000) The ShcA phosphotyrosine docking protein sensitizes cardiovascular signaling in the mouse embryo. *Genes Dev* 14, 1132-45.
- Lane, M. A., Ingram, D. K., et al.** (1999) Calorie restriction in nonhuman primates: effects on diabetes and cardiovascular disease risk. *Toxicol Sci* 52(2 Suppl) 41-48.
- Lang T.** (2007) SNARE proteins and 'membrane rafts'. *J Physiol*. 15;585(Pt 3):693-8.
- Langelier B, Alessandri JM, Perruchot MH, Guesnet P, Lavialle M** (2005) Changes of the transcriptional and fatty acid profiles in response to n-3 fatty acids in SH_SY5Y neuroblastoma cells, *Lipids*. 40(7):719-28
- Larsson H, Ahren B** (2000) Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Diabetes care*. 23(5):650-7.
- Lavoie, J. and D. Guayn** (2010) Vieillir en santé? Des inégalités persistantes, in *Vieillir au pluriel. Perspectives sociales*, M. Charpentier Editors. Presses de l'Université du Québec. p.115.
- Layé S** (2010) Polyunsaturated fatty acids, neuroinflammation and well being Prostaglandins. *Leukot Essent Fatty Acids*, 82(4-6):295-303
- Le Marchand-Brustel Y** (1999) Molecular mechanisms of insulin action in normal and insulin-resistant states. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 107(2):126-32.
- Le Plénier S, Walrand S, Noirt R, Cynober L, Moinard C** (2012) Effects of leucine and citrulline versus non-essential amino acids on muscle protein synthesis in fasted rat: a common activation pathway? *Amino Acids*. 43(3):1171-8.
- Le Roith D, Zick Y** (2001) Recent advances in our understanding of insulin action and

- insulin resistance. *Diabetes care*. 24(3):588-97.
- Lebrun P**, Van Obberghen E (2008) SOCS proteins causing trouble in insulin action. *Acta Physiol (Oxf)*. 192 (1): 29-36.
- Lee C.C.**, Glickman S.G., Dengel D.R (2005) Abdominal Adiposity Assessed by Dual Energy X-Ray Absorptiometry Provides a Sex-Independent Predictor of Insulin Sensitivity in Older Adults, *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 60: 872-877.
- Lee YH**, Giraud J, Davis RJ, White MF (2003) c-Jun N-terminal kinase (JNK) mediates feedback inhibition of the insulin signaling cascade. *J Biol Chem*. 31;278(5):2896-902.
- Legrand P** (2004) Comment augmenter l'apport nutritionnel en acides gras n-3 ? *OCL*, 11(1): 50-4
- Legrand P** (2007) Les acides gras : structures, fonctions, apports nutritionnels conseillés. *Cah Nutr Diét*, 42, Hors-série 1, 1S1-12.
- Legrand P**, Schmitt B, Mourot J, Catheline D, Chesneau G, Mireaux M, Kerhoas N, Weill P (2010) The consumption of food products from linseed-fed animals maintains erythrocyte omega-3 fatty acids in obese humans. *Lipids*. 45(1):11-9.
- Lester-Coll, N** (2006) Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J. Alzheimers. Dis*. 9, 13-33.
- Levin BE**, Dunn-Meynell AA, Banks WA (2004) Obesity-prone rats have normal blood-brain barrier transport but defective central leptin signaling before obesity onset. *Am J Physiol*. 286(1):R143-R150.
- Li C**, Friedman JM (1999) Leptin receptor activation of SH2 domain containing protein tyrosine phosphatase 2 modulates Ob receptor signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96(17): 9677-82.
- Li H**, Matheny M, Nicolson M, Tumer N, Scarpace PJ (1997) Leptin gene expression increases with age independent of increasing adiposity in rats. *Diabetes*. 46(12):2035-2039.
- Li K**, Huang T, Zheng J, Wu K, Li D. Effect of marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids on C-reactive protein, interleukin 6 and tumor necrosis factor α : a meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9:e88103.
- Li XL**, Aou S, Oomura Y, Hori N, Fukunaga K, Hori T (2002) Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience*. 113(3):607-615.
- Lieb W**, Beiser AS, Vasan RS (2009) Association of plasma leptin levels with incident Alzheimer disease and MRI measures of brain aging. *JAMA*. 302(23):2565-2572.
- Lin, S. J.**, Kaeberlein, M., et al. (2002) Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature* 418(6895) 344-348.
- Liu CJ** & Latham NK (2009) Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002759.
- Liu Q**, Adams L, Broyde A, Fernandez R, Baron AD, Parkes DG (2010) The exenatide analogue AC3174 attenuates hypertension, insulin resistance, and renal dysfunction in Dahl salt-sensitive rats. *Cardiovasc Diabetol*. 3;9:32.
- López-Soriano J**, Carbó N, López-Soriano FJ, Argilés JM (1998) Short-term effects of leptin on lipid metabolism in the rat. *FEBS Lett*. 431(3): 371-4.
- Lu, F-P**, Lin, H.K. Kuo (2009) Diabetes and the risk of multi-system aging phenotypes: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 4(1): p. e4144.
- Lukiw WJ**, Cui JG, Marcheselli VL, Bodker M, Botkjaer A, Gotlinger K, Serhan CN, Bazan NG, (2005) A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease, *J CLin*, 115(10):2774-83
- Lund IK**, Hansen JA, Andersen HS, Møller NP, Billestrup N (2005) Mechanism of protein tyrosine phosphatase 1B-mediated inhibition of leptin signalling. *J Mol Endocrinol*. 34(2): 339-51.

Lutzler P, Khoualalene M, Bekov K, Lapalus N, Carlier V, Hutzler P (2005) Les mécanismes du vieillissement. *Phytothérapie*. (2):53-6.

- M -

Ma XH, Muzumdar R, Yang XM, Gabriely I, Berger R, Barzilai N (2002) Aging is associated with resistance to effects of leptin on fat distribution and insulin action. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 57(6):B225–B231.

Maachi M, Piéroni L, Bruckert E, Jardel C, Fellahi S, Hainque B, Capeau J and Bastard JP (2004) Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord*. 28: 993-997.

Maalouf M., Rho, J. M., et al. (2009) The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain Res Rev* 59(2) 293-315.

Mack I, BelAiba RS, Djordjevic T, Gorkach A, Hauner H, Bader BL (2009) Functional analyses reveal the greater potency of preadipocytes compared with adipocytes as endothelial cell activator under normoxia, hypoxia, and TNF α exposure. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 297(3):E735–E748.

Mantis J. G., Centeno, N. A., et al. (2004) Management of multifactorial idiopathic epilepsy in EL mice with caloric restriction and the ketogenic diet: role of glucose and ketone bodies. *Nutrition & metabolism* 1(1) 11.

Mao X., Kikani, C., Riojas, R., Langlais, P., Wang, L., Ramos, F., Fang, Q., Christ-Roberts, C., Hong, J., Kim, R., et al. (2006). APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol* 8, 516-523.

Marcheselli VL, Hong S, Lukiw WJ (2003) Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and proinflammatory gene expression. *J Biol Chem* 278 : 43807-17.

Maresh GA, Maness LM, Zadina JE, Kastin AJ (2001) In vitro demonstration of a saturable transport system for leptin across the blood-brain barrier. *Life Sci*. 69(1): 67-73.

Marian M, G. Sacks (2009) Micronutrients and older adults. *Nutrition in Clinical Practice*, 24(2): p. 179-195.

Marszalek JR, Lodish HF (2005) Docosahexaenoic acid, fatty acid-interacting proteins and neuronal function: breastmilk and fish are good for you, *Annu Rev Cell Dev Biol*, 21:633-57

Martin DS, Spencer P, Horrobin DF, Lynch MA (2002) Long-term potentiation in aged rats is restored when the age-related decrease in polyunsaturated fatty acid concentration is reversed. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 67: 121-30.

Martin J.E. and M.T. Sheaff (2007) The pathology of ageing: concepts and mechanisms. *The Journal of pathology*, 211(2): p. 111-13.

Martinez-Vicente M, Sovak G & Cuervo AM (2005) Protein degradation and aging. *Exp Gerontol* 40, 622-633.

Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R, Vinolo MA, Festuccia WT, Lambertucci RH (2012) Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*. Feb 23;11.

Marzani B, Balage M, Venien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D & Mosoni L (2008) Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats. *J Nutr* 138, 2205-2211.

Maswood N., Young, J., et al. (2004) Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(52) 18171-18176.

Maswood N., Young, J., et al. (2004) Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and

- behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(52) 18171-18176.
- Mattson, M. P.** (2003) Will caloric restriction and folate protect against AD and PD? *Neurology* 60(4) 690-695.
- Maury E, Brichard SM** (2010) Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 314(1):1–16.
- McCay, C. M., Crowell, M. F., et al.** (1935) The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *Journal of Nutrition* 10(6) 63-79.
- McDonald RB, Horwitz BA** (1999) Brown adipose tissue thermogenesis during aging and senescence. *J Bioenerg Biomembr.* 31(5):507–516.
- McNamara RK, Jandacek R, Rider T, Tso P, Cole-Strauss A, Lipton JW** (2010) Omega-3 fatty acid deficiency increases constitutive pro-inflammatory cytokine production in rats: relationship with central serotonin turnover. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.*83(4-6):185-91.
- Meneilly, G.S** (2006) Diabetes in the elderly. *Medical Clinics of North America*, 90: p909-923.
- Meng Q, Cai D** (2011) Defective hypothalamic autophagy directs the central pathogenesis of obesity via the IkappaB kinase beta (IKKbeta)/NF-kappaB pathway. *J Biol Chem.* 16;286(37):32324-32
- Merry, B. J.** (2002) Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity. *The international journal of biochemistry & cell biology* 34(11) 1340-1354.
- Michael A, Jenaway A, Paykel ES, Herbert J** (2000) Altered salivary dehydroepiandrosterone levels in major depression in adults. *Biol Psychiatry.* 15;48 (10):989-95.
- Michalakis, K., Williams, C., Mitsiades, N., Blakeman, J., Balafouta-Tselenis, S., Giannopoulos, A., and Mantzoros, C.** (2007). Serum adiponectin concentrations and tissue expression of adiponectin receptors are reduced in patients with prostate cancer: a case control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16, 308-313.
- Migliaccio E, Mele, S., Salcini, A. E., Pelicci, G., Venus Lai, K. M., Superti-Furga, G., Pawson, T., Difiore, P, Lanfrancone, L. and Pelicci, P. G** (1997) Opposite effects of the p52shc/p46shc and p66shc splicing isoforms on the EGF receptor-MAP kinase-fos signaling pathway. *EMBO J.* 16: 706-716.
- Migrenne S, Marsollier N, Cruciani-Guglielmacci C, Magnan C** (2006) Importance of the gut brain axis in the control of glucose homeostasis. *Curr Opin Pharmacol* 6:592-597.
- Miller RA** (1991) Aging and immune function. *Int Rev Cytol.* 124: 187–215.
- Millward DJ, Fereday A, Gibson N, Pacy PJ** (1997) Aging, protein requirements, and protein turnover. *Am J Clin Nutr* 66, 774-786.
- Mirshamsi S,Laidlaw HA, Ning K, Anderson E, Burgess LA, Gray A, Sutherland C, Ashford ML** (2004) Leptin and insulin stimulation of signalling pathways in arcuate nucleus neurones: PI3K dependent actin reorganization and KATP channel activation. *BMC Neurosci.* 5:54.
- Mitsuuchi, Y., Johnson, S., Sonoda, G., Tanno, S., Golemis, E., and Testa, J.** (1999). Identification of a chromosome 3p14.3-21.1 gene, APPL, encoding an adaptor molecule that interacts with the oncoprotein-serine/threonine kinase AKT2. *Oncogene* 18, 4891-4898.
- Mohamed-Ali V, Flower L, Sethi J, Hotamisligil G, Gray R, Humphries SE, York DA, Pinkney J.** (2001) Beta-Adrenergic regulation of IL-6 release from adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 5864-5869.
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW.** (1997) Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82: 4196-4200.

- Moinard C, Le Plenier S, Perret C & Cynober L (2007b)** La Citrulline module la synthèse protéique musculaire chez le rat âgé dénutri via l'activation de S6R et de P70S6 kinase1. *Nutr Clin Metabol* 21, 32.
- Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA (2001)** Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, *JAMA*. 2003; 289(1):76–79.
- Monroe MB, Van Pelt RE, Schiller BC, Seals DR, Jones PP (2000)** Relation of leptin and insulin to adiposity-associated elevations in sympathetic activity with age in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 24(9):1183-7.
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ (1997)** Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 26;387:903-8.
- Moore SA, Hurt E, Yoder E, Sprecher H, Spector AA (1995)** Docosahexaenoic acid synthesis in human skin fibroblasts involves peroxisomal retroconversion of tetracosahexaenoic acid. *J Lipid Res.*, 36(11):2433-43
- Morais JA, Gougeon R, Pencharz PB, Jones PJ, Ross R & Marliss EB (1997)** Whole-body protein turnover in the healthy elderly. *Am J Clin Nutr* 66, 880-889.
- Moranis A, Delpech JC, De Smedt-Peyrusse V, Aubert A, Guesnet P, Lavielle M, Joffre C, Layé S. (2012)** Long term adequate n-3 polyunsaturated fatty acid diet protects from depressive-like behavior but not from working memory disruption and brain cytokine expression in aged mice. *Brain Behav Immun*. 26(5):721-31.
- Moreira, Paula I. (2013)** High-sugar diets, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 16:440–445.
- Morel Y1, Barouki R.** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. 1999 Sep 15;342 Pt 3:481-96.
- Morley JE, Thomas DR, Wilson MM (2006)** Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr*. 83(4):735-43.
- Morley JE.** Nutrition and the aging male. *Clin Geriatr Med* 2010; 26: 287-299.
- Morley, J.E (2008)** Diabetes and aging: epidemiologic overview. *Clinics in geriatric medicine*, 24(3): p. 395 - 405.
- Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Wilson RS, Aggarwal N, Schneider J (2003)** Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 60(7):940-6.
- Morrison CD, Morton GJ, Niswender KD, Gelling RW, Schwartz MW (2005)** Leptin inhibits hypothalamic Npy and Agrp gene expression via a mechanism that requires phosphatidylinositol 3-OH-kinase signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*.289(6):E1051-7.
- Mosoni L, Balage M, Vazeille E, Combaret L, Morand C, Zagol-Ikapitte I, Boutaud O, Marzani B, Papet I, Dardevet D (2010)** Antioxidant supplementation had positive effects in old rat muscle, but through better oxidative status in other organs. *Nutrition*. 26(11-12):1157-62.
- Mosoni L, Breuille D, Buffiere C, Obled C & Mirand PP (2004)** Age-related changes in glutathione availability and skeletal muscle carbonyl content in healthy rats. *Exp Gerontol* 39, 203-210.
- Mosoni L, Malmezat T, Valluy MC, Houlier ML, Attaix D & Mirand PP (1999)** Lower recovery of muscle protein lost during starvation in old rats despite a stimulation of protein synthesis. *Am J Physiol* 277, E608-E616.
- Mosoni L, Valluy MC, Serrurier B, Prugnaud J, Obled C, Guezennec CY & Mirand PP (1995)** Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. *Am J Physiol* 268, E328-E335.
- Moussard C (2006)** Biochimie structurale et métabolique 3ème édition, Ed de Boeck.
- Mozaffarian D, de Oliveira Otto MC, Lemaitre RN, Fretts AM, Hotamisligil G, Tsai MY, Siscovick DS, Nettleton JA (2013)** trans-Palmitoleic acid, other dairy fat biomarkers, and incident diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr*. 97(4):854-61.

- N -

- Muller WA**, Faloona GR, Aguilar-Parada E, Unger RH (1970) Abnormal alpha-cell function in diabetes. Response to carbohydrate and protein ingestion. *The New England journal of medicine*. 16;283(3):109-15.
- Munzberg H**, Bjornholm M, Bates SH, Myers MG Jr. (2005b) Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cell Mol Life Sci.*; 62(6):642–652.
- Munzberg H**, Myers MG Jr (2005a) Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci*. 8(5):566–570.
- Muoio DM**, Newgard CB (2008) Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*. 9 (3):193-205.
- Muscaritoli M**, Anker SD, Argiles J (2010) Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: Joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) cachexia/anorexia in chronic wasting diseases" and "nutrition in geriatrics. *Clin Nutr* 29, 154-9.
- Muscaritoli M**, Anker SD, Argiles J (2010) Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: Joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) cachexia/anorexia in chronic wasting diseases" and "nutrition in geriatrics. *Clin Nutr* 29, 154-9.
- Muzumdar RH**, Ma X, Yang X, Atzmon G, Barzilai N (2006) Central resistance to the inhibitory effects of leptin on stimulated insulin secretion with aging. *Neurobiol Aging*. 27(9):1308–1314.
- Myers MG Jr**, Wang LM, Sun XJ, Zhang Y, Yenush L, Schlessinger J, Pierce JH, White MF (1994b) Role of IRS-1-GRB-2 complexes in insulin signaling. *Mol Cell Biol*. 14(6):3577-87.
- Myers MG**, Cowley MA, Munzberg H (2008) Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Ann Rev Physiol*. 70:537–556.
- Naderali EK**, Ratcliffe SH, Dale MC (2009) Obesity and Alzheimer's disease: a link between body weight and cognitive function in old age. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*. 24(6):445–449.
- Nair KS** (1995) Muscle protein turnover: methodological issues and the effect of aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 50, 107-112.
- Nieuwenhuizena WF**, H, Weenena H, Rigby P, Hetherington MM. (2010) Older adults and patients in need of nutritional support: Review of current treatment options and factors influencing nutritional intake. *Clinical Nutrition*. 29: 160-9.
- Nilsson, M** (2004). Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *Am J Clin Nutr* 80(5): 1246-53.
- Nilsson, M** (2007). Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *Am J Clin Nutr* 85(4): 996-1004.
- Niswender KD**, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG, Jr., Schwartz MW (2001) Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*. 25;413(6858):794-5.
- Noda M**, Yamashita S, Takahashi N, Eto K, Shen LM, Izumi K (2002) Switch to anaerobic glucose metabolism with NADH accumulation in the beta-cell model of mitochondrial diabetes. Characteristics of beta HC9 cells deficient in mitochondrial DNA transcription. *J Biol Chem*. 1;277(44):41817-26.

- O -

- Ogden C** (2013) Prevalence of obesity among adults: United States, 2011- 2012. NCHS data brief, (131): p. 1- 8.
- Ohneda, A** (1968a). Control of pancreatic glucagon secretion by glucose. *Diabetes* 17: 312.

- Ohneda**, A (1968b). Characterization of response of circulating glucagon to intraduodenal and intravenous administration of amino acids. *J Clin Invest* 47(10): 2305-22.
- Oliveira**, M.R.M., K.C.P. Fogaça, and V.n. Leandro Merhi, Nutritional status and functional capacity of hospitalized elderly. *Nutrition journal*, 2009. 8: p. 54-54.
- Oliver** E, McGillicuddy FC, Harford KA, Reynolds CM, Phillips CM, Ferguson JF, Roche HM (2012) Docosahexaenoic acid attenuates macrophage-induced inflammation and improves insulin sensitivity in adipocytes-specific differential effects between LC n-3 PUFA. *J Nutr Biochem*. 23(9):1192-200.
- Orr** SK, Bazinet RP (2008) The emerging role of docosahexaenoic acid in neuroinflammation. *Curr Opin Investig Drugs*, 9(7):735-43
- Otsuka** M, Yamaguchi K, Ueki A (2002) Similarities and differences between Alzheimer's disease and vascular dementia from the viewpoint of nutrition. *Ann N Y Acad Sci*. 977:155-61.
- Otsuka**, F., Sugiyama, S., Kojima, S., Maruyoshi, H., Funahashi, T., Sakamoto, T., Yoshimura, M., Kimura, K., Umemura, S., and Ogawa, H. (2007). Hypoadiponectinemia is associated with impaired glucose tolerance and coronary artery disease in non-diabetic men. *Circ J* 71, 1703-1709.
- Ouwens** DM, van der Zon GC, Pronk GJ, Bos JL, Möller W, Cheatham B, Kahn CR, Maassen JA (1994) A mutant insulin receptor induces formation of a Shc-growth factor receptor bound protein 2 (Grb2) complex and p21ras-GTP without detectable interaction of insulin receptor substrate 1 (IRS-1) with Grb2. Evidence for IRS-1- independent p21ras-GTP formation. *J Biol Chem*. 269(52): 33116-22.
- P -**
- Pacy**, P. J (1994) Nitrogen homeostasis in man: the diurnal responses of protein synthesis and degradation and amino acid oxidation to diets with increasing protein intakes. *Clin Sci (Lond)* 86(1): 103-16.
- Paddon-Jones** D, Sheffield-Moore M, Zhang XJ, Volpi E, Wolf SE, Aarsland A, Ferrando AA, Wolfe RR. Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286(3):E321-8.
- Pal** S, Ellis V (2010) The acute effects of four protein meals on insulin, glucose, appetite and energy intake in lean men. *J Nutr*.104(8):1241-8.
- Pal** S, Ellis V (2010) The chronic effects of whey proteins on blood pressure, vascular function, and inflammatory markers in overweight individuals. *Obesity (Silver Spring)*.18(7):1354-9.
- Pal** S, Ellis V, Dhaliwal S (2010) Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals. *Br J Nutr*.104(5):716-23.
- Paolisso** G, Gambardella A, Ammendola S (1996) Glucose tolerance and insulin action in healthy centenarians. *Am J Physiol*. 270(5 Pt 1):E890-E894.
- Park**, H. R. et Lee, J. (2011) Neurogenic contributions made by dietary regulation to hippocampal neurogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 122923-28.
- Path** G, Bornstein SR, Gurniak M, Chrousos GP, Scherbaum WA and Hauner H (2001) Human breast adipocytes express interleukin-6 (IL-6) and its receptor system: increased IL-6 production by beta-adrenergic activation and effects of IL-6 on adipocyte function. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 86: 2281-2288.
- Payette**, H, M. Ferry (2007) Nutrition, in *Précis pratique de gériatrie*, Arcand M and Hébert R, Editors. Edisem-Maloine: Montréal-Paris. 1043-1058.
- Paz-Filho** GJ, Babikian T, Asanow R, Esposito K, Erol HK, Wong ML, Licinio J (2008) Leptin replacement improves cognitive development. *PlosOne*; 3: 8-e3098

- Peppard RF** (1992) Cerebral glucose metabolism in Parkinson's disease with and without dementia. *Arch Neurol.* 49(12):1262-8.
- Perichon R, Bourre JM, Kelly JF, Roth GS** (1998) The role of peroxisomes in aging. *Cell Mol Life Sci* 54 : 641-52.
- Peto R, Whitlock G, Jha P** (2010) Effects of obesity and smoking on US life expectancy. *N Engl J Med.* 362(9): 855–856; author reply, 856–857.
- Petursdottir AL, Farr SA, Morley JE, Banks WA, Skuladottir GV** (2008) Effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on brain lipid fatty acid composition, learning ability, and memory of senescence-accelerated mouse. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 63(11):1153-60.
- Pfannenberger C, Werner MK, Ripkens S** (2010) Impact of age on the relationships of brown adipose tissue with sex and adiposity in humans. *Diabetes.*59(7):1789–1793.
- Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Suppan K, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H.** Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporos Int* 2009; 20 :315-22.
- Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD and Burt D** (1997) NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia.* 40: 1286-1292.
- Piessevaux J, Lavens D, Peelman F, Tavernier J** (2008) The many faces of the SOCS box. *Cytokine Growth Factor Rev.* 19(5-6): 371-81.
- Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB** (2004) Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA. the journal of the American Medical Association.*14;291(14):1730-7.
- Pla A** (2008) Bilan démographique Plus d'enfants, de plus en plus tard. *Insee.* 2009.
- Plourde M, Cunnane SC** (2007) Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults : implications for their dietary essentiality and use as supplements, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.,* 32(4):619-34
- Pluess TT, Hayoz D, Berger MM, Tappy L, Revelly JP, Michaeli B, Carpentier YA, Chioleró RL.** (2007) Intravenous fish oil blunts the physiological response to endotoxin in healthy subjects. *Intensive Care Med.*33(5):789-97.
- Porte D Jr, Seeley RJ, Woods SC, Baskin DG, Figlewicz DP, Schwartz MW** (1998) Obesity, diabetes and the central nervous system. *Diabetologia* 41(8): 863-81.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE and Ridker PM** (2001) C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 286: 327-334.
- Proud CG** (2007) Amino acids and mTOR signalling in anabolic function. *Biochem Soc Trans* 35, 1187-1190.
- Q -
- Qi Y, Xu Z, Zhu Q, Thomas C, Kumar R, Feng H, Dostal DE, White MF, Baker KM, Guo S** (2013) Myocardial loss of IRS1 and IRS2 causes heart failure and is controlled by p38 α MAPK during insulin resistance. *Diabetes;* 62: 3887-900.
- Qiu J, Ogus S, Lu R, Chehab FF** (2001) Transgenic mice overexpressing leptin accumulate adipose mass at an older, but not younger, age. *Endocrinology.* 142(1):348–358.
- Quesada I, Tuduri E, Ripoll C, Nadal A** (2008) Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *The Journal of endocrinology.* 199(1):5-19.
- R -
- Rahman, I, Biswas, S.K. and Kode, A** (2006) Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur J Pharmacol* 533, 222-39.
- Rameh LE, Chen CS, Cantley LC** (1995) Phosphatidylinositol (3,4,5)P3 interacts with SH2 domains and modulates PI 3-kinase association with tyrosine-

- phosphorylated proteins. *Cell*. 83: 821-830.
- Ramrath**, S, Tritschler, H.J. and Eckel, J (1999) Stimulation of cardiac glucose transport by thioctic acid and insulin. *Horm Metab Res* 31, 632-5.
- Rao** JS, Ertley RN, DeMar JC Jr, Rapoport SI, Bazinet RP, Lee HJ (2007) Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol Psychiatry*.12(2):151-7.
- Rattan**, S.I.S (2006) Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free radical research*, 40(12): p. 1230-1238
- Raynaud-Simon** A, Fabre EE, Golmard JL, Gourgouillon N, Beaudeau JL, Nivet-Antoine V (2010) Interest and limits of glomerular filtration rate (GFR) estimation with formulae using creatinine or cystatin C in the malnourished elderly population. *Arch Gerontol Geriatr*. May-50(3):e55-8.
- Raynaud-simon** A., Revel-delhom C., Hasle m.A. (2007) Stratégie de Prise En Charge En Cas de Dénutrition Protéino-énergétique Chez La Personne Âgée, *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21 : 120-133.
- Reaven** GM (1995) Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiological reviews*. 75(3):473-86.
- Reaven**, GM1 (2006) The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr*. 83(6):1237-47.
- Rees** D, Miles EA, Banerjee T, Wells SJ, Roynette CE, Wahle KW, Calder PC (2006) Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *Am J Clin Nutr*.83(2):331-42.
- Rena** G, Guo S, Cichy SC, Unterman TG, Cohen P (1999) Phosphorylation of the transcription factor forkhead family member FKHR by protein kinase B. *J Biol Chem*. 274(24): 17179-83.
- Reutens** S, Sachdev P (2002) Homocysteine in neuropsychiatric disorders of the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry*.17(9):859-64.
- Ricci** P, Blotières P-O, Weill A, Simon D, Tuppin P, Ricordeau P (2010) Diabète traité: quelles évolutions entre 2000 et 2009? *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*.;42-43.
- Ridker** PM (2003) Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 107: 363-369.
- Rieu** I, Balage M, Sornet C, Debras E, Ripes S, Rochon-Bonhomme C, Pouyet C, Grizard J & Dardevet D (2007) Increased availability of leucine with leucine-rich whey proteins improves postprandial muscle protein synthesis in aging rats. *Nutrition* 23, 323-331.
- Rieu** I, Balage M, Sornet C, Giraudet C, Pujos E, Grizard J, Mosoni L, Dardevet D (2006) Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia. *J Physiol* 575, 305-315.
- Rieu** I, Magne H, Savary-Auzeloux I, Averous J, Bos C, Peyron MA, Combaret L, Dardevet D. (2009) Reduction of low grade inflammation restores blunting of postprandial muscle anabolism and limits sarcopenia in old rats. *J Physiol*.15;587:5483-92.
- Risher** JF, Todd GD, Meyer D, Zunker CL (2010) The elderly as a sensitive population in environmental exposures: making the case. *Rev Environ Contam Toxicol*.;207:95-157.
- Rizzoli** R, Stevenson JC, Bauer JM, van Loon LJ, Walrand S, Kanis JA, Cooper C, Brandi ML, Diez-Perez A, Reginster JY; ESCEO Task Force (2014) The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: a consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Maturitas*. 79(1):122-32.
- Robert** L (1989) *Les horloges biologiques*. Flammarion. paris, PP ; 105-158.
- Robson** LG, Dyall S, Sidloff D, Michael-Titus AT (2010) Omega-3 polyunsaturated fatty acids increase the neurite outgrowth of rat

sensory neurones throughout development and in aged animals. *Neurobiol Aging*.31(4):678-87.

Rocha, D. M (1972) Glucagon-stimulating activity of 20 amino acids in dogs. *J Clin.*

Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW (1996) Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 15;97(12):285965.

Rogers R, Davis R, Denham DA (1975) A new technique for the study of changes in lymphatics caused by filarial worms. *Journal of helminthology.* 49(1):31-2.

Rolland, Y (2009) Difficulties with physical function associated with obesity, sarcopenia, and sarcopenic-obesity in community-dwelling elderly women: the EPIDOS (EPIDemiologie de l'OSteoporose) Study. *The American journal of clinical nutrition,* 89(6):1895-1900.

Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA & Nair KS (1996) Effect of age on in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 15364-15369.

Rosen CJ, Bouxsein ML (2006) Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2(1):35-43.

Rosen ED, Spiegelman B (2000) Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16: 145-71.

Rosenberg, I.H (2012) Editorial: Nutrition and the Biology of Human Ageing: Proceedings of the Ninth Nestle International Nutrition Symposium. *The journal of nutrition, health & aging,* 17(8): p. 706-706.

Rosmond R (2004) Contribution of stress to the development of the metabolic syndrome. In memory of Per Bjorntorp (1931-2003). *Lakartidningen.*7;101(15-16):1371-5.

Rowe JW, Minaker KL, Pallotta JA, Flier JS (1983) Characterization of the insulin resistance of aging. *J Clin Invest.*71(6):1581-7.

Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N (1998) Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes.*47(10):1562-9.

Rudich, A, Tirosh, A., Potashnik, R., Khamaisi, M. and Bashan, N (1999) Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia* 42, 949-57.

Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A (2001) Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest.* 107 (2):181-9.

Russell SJ, Kahn CR (2007) Endocrine regulation of ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 8(9):681-691.

- S -

Sackmann-Sala L, Berryman DE, Lubbers ER, Vesel CB, Troike KM, List EO (2012) Decreased insulin sensitivity and increased oxidative damage in wasting adipose tissue depots of wild-type mice. *Age (Dordr).*34 (5):1225-37.

Sacks, D.B., V. Fonseca, and A.B. Goldfine (2011) Diabetes: advances and controversies. *Clinical Chemistry.* 57(2): p. 147-149.

Saely, C., Risch, L., Hoefle, G., Rein, P., Muendlein, A., Marte, T., Aczel, S., Langer, P., and Drexel, H. (2007). Low serum adiponectin is independently associated with both the metabolic syndrome and angiographically determined coronary atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 383, 97-102.

Sakai K, Matsumoto K, Nishikawa T, Suefuji M, Nakamaru K, Hirashima Y (2003) Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun.*3;300(1):216-22.

Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Leturque A, Girard J, Staels B, Auwerx J (1995) Transient increase in obese gene

- expression after food intake or insulin administration. *Nature* 377(6549): 527-9.
- Salem N Jr, Litman B, Kim HY, Gawrisch K** (2001) Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids*.36(9):945-59.
- Salles J, Chanet A, Giraudet C, Patrac V, Pierre P, JourdanM, Luiking YC, Verlaan S, Migné C, Boirie Y, Walrand S** (2013) 1,25(OH)₂- vitamin D₃ enhances the stimulating effect of leucine and insulin on protein synthesis rate through Akt/PKB and mTOR mediated pathways in murine C2C12 skeletal myotubes. *Mol. Nutr. Food Res.* 57: 2137–2146.
- Saltiel AR, Kahn CR** (2001) Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414: 799-806
- Saltiel, A R. and Pessin, J.E.** Insulin signaling pathways in time and space. *Trends.* 2002. *Cell Biol* 12, 65-71.
- Saltiel, A.R. and Kahn, C.R** (2001) Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414, 799-806.
- Sampath H, Ntambi JM** (2004) Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Nutr Rev*, 62(9):333-9
- Sanchez-Rodriguez M, Garcia-Sanchez A, Retana-Ugalde R, Mendoza-Nunez VM.** (2000) Serum leptin levels and blood pressure in the overweight elderly. *Arch Med Res.* 31(4):425–428.
- Sanders, J.L., R.M. Boudreau, and A.B. Newman** (2012) Understanding the aging process using epidemiologic approaches, in *The epidemiology of aging*, A.B. Newman and J. Cauley, Editors. Springer: USA.187-214.
- Sands SA, Reid KJ, Windsor SL, Harris WS** (2005) The impact of age, body mass index, and fish intake on the EPA and DHA content of human erythrocytes. *Lipids.* 40(4):343-7.
- Sands Scott A., Kimberly J. Reid, Sheryl L. Windsor, and William S. Harris** (2005) - The Impact of Age, Body Mass Index, and Fish Intake on the EPA and DHA Content of Human Erythrocyte. *Lipids*, Vol. 40, no. 4
- Sarkar, N. H., Fernandes, G., et al.** (1982) Low-calorie diet prevents the development of mammary tumors in C3H mice and reduces circulating prolactin level, murine mammary tumor virus expression, and proliferation of mammary alveolar cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79(24) 7758-7762
- Sasaoka T, Draznin B, Leitner JW, Langlois WJ, Olefsky JM** (1994) Shc is the predominant signaling molecule coupling insulin receptors to activation of guanine nucleotide releasing factor and p21ras-GTP formation. *J Biol Chem.* 269(14): 10734-8.
- Sawka-Verhelle D, Baron V, Mothe I, Filloux C, White MF, Van Obberghen E** (1997) Tyr624 and Tyr628 in insulin receptor substrate-2 mediate its association with the insulin receptor. *J Biol Chem.* 272(26): 16414-20.
- Sawka-Verhelle D, Filloux C, Tartare-Deckert S, Mothe I, Van Obberghen E** (1997) Identification of Stat 5B as a substrate of the insulin receptor. *Eur J Biochem.* 250(2):411-7.
- Scalfi L, Coltorti A and Contaldo F** (1991). Postprandial thermogenesis in lean and obese subjects after meals supplemented with medium-chain and long-chain triglycerides. *Am J Clin Nutr* 53(5): 1130-3.
- Scarpace PJ, Matheny M, Moore RL, Tumer N** (2000) Impaired leptin responsiveness in aged rats. *Diabetes.*;49(3):431–435.
- Scarpace PJ, Matheny M, Tumer N** (2001) Hypothalamic leptin resistance is associated with impaired leptin signal transduction in aged obese rats. *Neuroscience.* 104(4):1111–1117.
- Scarpace PJ, Nicolson M, Matheny M** (1998) UCP2, UCP3 and leptin gene expression: modulation by food restriction and leptin. *J Endocrinol.* 159(2): 349-57.
- Scarpace PJ, Zhang Y** (2009) Leptin resistance: a prediposing factor for diet-

- induced obesity. *Am J Physiol.* 296(3):R493–R500.
- Scarpellini E, Tack J** (2012) Obesity and metabolic syndrome: an inflammatory condition. *Dig Dis.* 30(2):148–153.
- Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Visser M** (2006) Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. *Am J Med.* 119(6):526.e9-17.
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G and Lodish HF** (1995) A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 270: 26746-26749.
- Scherer PE.** Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. 2006, *Diabetes.* 55: 1537-1545.
- Schneider SM, Al-Jaouni R, Pivot X, Braulio VB, Rampal P & Hebuterne X** (2002) Lack of adaptation to severe malnutrition in elderly patients. *Clin Nutr* 21, 499-504.
- Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G, Prunkard DE, Porte D Jr, Woods SC, Seeley RJ, Weigle DS** (1996) Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 45(4): 531-5.
- Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D Jr** (1996) Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med.* 2(5):589–593.
- Seaton TB, Welle SL, Warenko MK and Campbell RG** (1986) Thermic effect of mediumchain and long-chain triglycerides in man. *Am J Clin Nutr* 44(5): 630-4.
- Sebastian R.S** (2007) Older adults who use vitamin/mineral supplements differ from nonusers in nutrient intake adequacy and dietary attitudes. *Journal of the American Dietetic Association*, 107(8): p. 1322-1332.
- Serhan CN, Petasis** (2011) Resolvins and protectins in inflammation resolution, *Chem Res.*
- Sesti G, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Sbraccia P and Lauro R** (2001) Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders. *FASEB. J.* 15: 2099- 2111.
- Severus WE, Littman AB, Stoll AL** (2001) Omega-3 fatty acids, homocysteine, and the increased risk of cardiovascular mortality in major depressive disorder. *Harv Rev Psychiatry.* 9.280-93.
- Shah P, Vella A, Basu A, Basu R, Schwenk WF, Rizza RA** (2000) Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(11):4053-9.
- Shahbazian LM1, Jeevanandam M, Petersen SR** (1999) Release of proinflammatory cytokines by mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells from critically ill multiple-trauma victims. *Metabolism.* 48(11):1397-401.
- Shaikh SR, Cherezov V, Caffrey M, Stillwell W, Wassall SR** (2003) Interaction of cholesterol with a docosahexaenoic acid-containing phosphatidylethanolamine: trigger for microdomain/raft formation? *Biochemistry.* 21;42(41):12028-37.
- Shapiro H** (2003) Could n-3 polyunsaturated fatty acids reduce pathological pain by direct actions on the nervous system? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 68(3):219-24.
- Shek EW, Brands MW, Hall JE** (1998) Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension.* 31(1 Pt 2):409-14.
- Shepherd, P.R. and Kahn, B.B** (1999) Glucose transporters and insulin action—implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 341, 248-57.
- Shi H, Tzamelis I, Bjørbaek C, Flier JS** (2004) Suppressor of cytokine signaling 3 is a physiological regulator of adipocyte insulin signaling. *J Biol Chem.* 279(33): 34733-40.
- Shizgal HM, Martin MF & Gimmon Z** (1992) The effect of age on the caloric

- requirement of malnourished individuals. *Am J Clin Nutr* 55, 783-789.
- Shulman, G.I** (2000) Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 106, 171-6.
- Sies H** (1991) Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 30;91(3C):31S-38S.
- Simon HB** (2005) On call. I know you have expressed reservations about alternative therapy from time to time. I realize that it's a tricky issue for doctors, but I find the idea appealing. In particular, I'd like your opinion about chelation therapy. I'm a 68-year-old diabetic with angina. *Harv Mens Health Watch.* 10(5):8.
- Simopoulos A.P** (2001) Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids. *World Rev Nutr Diet.* Volume 88, pp. 18-27
- Sinclair AJ, Attar-Bashi NM, Li D** (2002) What is the role of alpha-linolenic acid for mammals ?, *Lipids*, 37(12):1113-23
- Singh-Manoux A, Czernichow S, Elbaz A** (2012) Obesity phenotypes in midlife and cognition in early old age: the Whitehall II cohort study. *Neurology.* 79(8):755-762.
- Singh-Manoux A, Czernichow S, Elbaz A, Dugravot A, Sabia S, Hagger-Johnson G, Kaffashian S, Zins M, Brunner EJ, Nabi H, Kivimäki M** (2012) Obesity phenotypes in midlife and cognition in early old age: the Whitehall II cohort study. *Neurology.* 21;79:755-62.
- Slieker LJ, Sloop KW, Surface PL, Kriauciunas A, LaQuier F, Manetta J, Bue-Valleskey J, Stephens TW** (1996) Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem.* 271(10): 5301-4.
- Smit EN, Koopmann M, Boersma ER, Muskiet FA** (200) Effect of supplementation of arachidonic acid (AA) or a combination of AA plus docosahexaenoic acid on breastmilk fatty acid composition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 62:335-40.
- Sohal, R. S., Ku, H. H., et al.** (1994) Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging and in response to food restriction in the mouse. *Mech Ageing Dev* 74(1-2) 121-133.
- Sood, A., Cui, X., Qualls, C., Beckett, W., Gross, M., Steffes, M., Smith, L., and Jacobs, D.** (2008). Association between Asthma and Serum Adiponectin Concentration in Women. *Thorax.*
- Spalding KL, Arner E, Westermark PO** (2008) Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature.* 453(7196):783-787.
- Spence JW,** Some observations on sugar tolerance with special reference to variations found at different ages. *1920 QJM: monthly journal of the Association of Physicians.* 1921;14:314-26.
- Spite M, NOrling LV, Summers L, Yang R, Cooper D, Petasis NA, Flwer RJ, Perretti M, Serhan CN** (2009) Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis, *Nature*, 461(7268):1287-91
- Sprecher H** (2002) The roles of anabolic and catabolic reactions in the synthesis and recycling of polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids,* 67(2-3):79-83
- Stark DT, Bazan NG** (2011) Neuroprotectin D1 induces neuronal survival and downregulation of amyloidogenic processing in Alzheimer's disease cellular models. *MI Neurobiol,* 43(2):131-8
- Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, Hale J, Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, MacKellar W, Rosteck PR, Schoner B, Smith D, Tinsley FC, Zhang XY, Heiman M** (1995) The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 377(6549): 530-2.
- Stewart, J., Mitchell, J., et al.** (1989) The effects of life-long food restriction on spatial memory in young and aged Fischer 344 rats measured in the eight-arm radial and the Morris water mazes. *Neurobiol Aging* 10(6) 669-675.
- Stillwell W and Wassall SR** (2003). Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem Phys Lipids* 126(1): 1-27.

- Stillwell** W and **Wassall** SR (2003). Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem Phys Lipids* 126(1): 1-27.
- Storgaard**, H., **Poulsen**, P., **Ling**, C., **Groop**, L., and **Vaag**, A. (2007). Relationships of plasma adiponectin level and adiponectin receptors 1 and 2 gene expression to insulin sensitivity and glucose and fat metabolism in monozygotic and dizygotic twins. *J Clin Endocrinol Metab* 92, 2835-2839.
- Su** HM (2010) Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. *J Nutr Biochem.* 21(5):364-73.
- Su** KP, **Huang** SY, **Peng** CY, **Lai** HC, **Huang** CL, **Chen** YC, **Aitchison** KJ, **Pariante** CM (2010) Phospholipase A2 and cyclooxygenase 2 genes influence the risk of interferon-alpha-induced depression by regulating polyunsaturated fatty acids levels. *Biol Psychiatry*,67(6):550-7
- Sun** YP, **Oh** SF, **Uddin** J, **Yang** R, **Gotlinger** K, **Campbell** E, **Colgan** SP, **Petasis** NA, **Serhan** SN, (2007) Resolvin D1 and its aspirin-triggered 17R epimer. Stereochemical assignments, anti-inflammatory properties and enzymatic inactivation. *J Biol Chem*, 282(13):9323-34
- Szczepaniak** LS, **Babcock** EE, **Schick** F, **Dobbins** RL, **Garg** A, **Burns** DK (1999) Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. *The American journal of physiology.* 276 (5 Pt 1):E977-89.
- T -**
- Taghizadeh** M, **Djazayery** A, **Salami** M, **Eshraghian** MR, **Zavareh** SA (2011) Vitamin-D-free regimen intensifies the spatial learning deficit in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci.* 121(1):16-24. Epub 2010 Oct 22.
- Taniguchi** CM, **Emanuelli** B, **Kahn** CR (2006) Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature reviews Molecular cell biology.* 7 (2):85-96.
- Taouis** M, **Dagou** K, **Ster** C, **Durand** G, **Pinault** M, **Delarue** J (2002) N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab;* 282: E664-671.
- Tassoni** D, **Kaur** G, **Weisinger** RS, **Sinclair** AJ (2008) The role of eicosanoids in the brain. *Asia Pac J Clin Nutr.* 17 Suppl 1:220-8.
- Tataranni** PA & **Ortega** E (2005) A burning question: does an adipokine-induced activation of the immune system mediate the effect of overnutrition on type 2 diabetes? *Diabetes.* 54: 917-927.
- Tezapsidis** N, **Johnston** JM, **Smith** MA (2009) Leptin: a novel therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 16(4):731-740.
- Thornton** JE, **Cheung** CC, **Clifton** DK, **Steiner** RA (1997) Regulation of hypothalamic proopiomelanocortin mRNA by leptin in ob/ob mice. *Endocrinology* 138(11): 5063-6.
- Toker** A, **Newton** AC (2000) Cellular signaling: pivoting around PDK-1. *Cell.* 103:185-188.
- Toth** A, **Nickson** P, **Qin** LL, **Erhardt** P (2006) Differential regulation of cardiomyocyte survival and hypertrophy by MDM2, an E3 ubiquitin ligase. *J Biol Chem.*10;281(6) :3679-89.
- Toth** MJ & **Tchernof** A (2006) Effect of age on skeletal muscle myofibrillar mRNA abundance: relationship to myosin heavy chain protein synthesis rate. *Exp Gerontol* 41, 1195-1200.
- Trayhurn** P, **Wood** IS (2004) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.*92(3):347-55.
- Trivalle** C (2008) *Gérontologie préventive : éléments de prévention du vieillissement pathologique*, Paris, Ed Masson,
- Tsao** TS, **Lodish** HF and **Fruebis** J (2002) ACRP30, a new hormone controlling fat and glucose metabolism. *Eur. J. Pharmacol.* 440: 213-221.

- U -

- Ueki K, Kondo T, Kahn CR (2004)** Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms. *Mol Cell Biol.* 24(12): 5434- 46.
- Ueno N, Oh-ishi S, Segawa M (1998)** Effect of age on brown adipose tissue activity in the obese (ob/ob) mouse. *Mech Ageing Dev.* 100(1):67-76.
- Ugarte N, Petropoulos I & Friguet B (2009)** Oxidized mitochondrial protein degradation and repair in aging and oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 13, 539-49.
- Unger RH (2005)** Longevity, lipotoxicity and leptin: the adipocyte defense against feasting and famine. *Biochimie.* 87(1):57-64.

- V -

- van de Rest O, Geleijnse JM, Kok FJ, van Staveren WA, Dullemeijer C, Olderkert MG, Beekman AT, de Groot CP (2008)** Effect of fish oil on cognitive performance in older subjects: a randomized, controlled trial. *Neurology.* 5;71(6):430-8.
- van de Rest O, Geleijnse JM, Kok FJ, van Staveren WA, Hoefnagels WH, Beekman AT, de Groot LC (2008)** Effect of fish-oil supplementation on mental well-being in older subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 88(3):706-13.
- Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P (1998)** Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes.* 47(6):913-917.
- Van Harmelen V, Rohrig K, Hauner H (2004)** Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects. *Metabolism.* 53(5):632-637.
- Van Loon, L. J (2003).** Amino acid ingestion strongly enhances insulin secretion in

patients with long-term type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26(3): 625-30.

- Vanhaesebroeck B, Alessi DR (2000)** The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *Biochem J.* 346: 561-576
- Vanhaesebroeck B, Alessi DR (2000)** The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *Biochem J.* 346(Pt 3): 561-76.
- Vary, T. C. (2007).** Acute oral leucine administration stimulates protein synthesis during chronic sepsis through enhanced association of eukaryotic initiation factor 4G with eukaryotic initiation factor 4E in rats. *J Nutr* 137(9): 2074-9.
- Vary, T. C. and C. J. Lynch (2007).** Nutrient signaling components controlling protein synthesis in striated muscle. *J Nutr* 137(8): 1835-43.
- Vermeulen A, Goemaere S & Kaufman JM (1999)** Testosterone, body composition and aging. *J Endocrinol Invest* 22, 110-116.
- Vernace VA, Schmidt-Glenewinkel T & Figueiredo-Pereira ME (2007)** Aging and regulated protein degradation: who has the UPPer hand? *Aging Cell* 6, 599-606.
- Vicennati V, Vottero A, Friedman C, Papanicolaou DA (2002)** Hormonal regulation of interleukin-6 production in human adipocytes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26: 905-911.
- Vincent HK, Vincent KR, Lamb KM (2010)** Obesity and mobility disability in the older adult. *Obes Rev.* 11(8):568-79.
- Virkamaki, A., Ueki, K. and Kahn, C.R.** Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. 1999. *J Clin Invest* 103, 931-43.
- Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, Nevitt M, Harris TB (2002)** Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 57(5):M326-32.

Vojtek AB, Hollenberg SM, Cooper JA (1993) Mammalian Ras interacts directly with the serine/threonine kinase Raf. *Cell* 74(1): 205-14.

Volpi E, Campbell WW, Dwyer JT, Johnson MA, Jensen GL, Morley JE, Wolfe RR. Is the optimal level of protein intake for older adults greater than the recommended dietary allowance? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 68: 677-681.

Volpi E, Ferrando AA, Yeckel CW, Tipton KD & Wolfe RR (1998) Exogenous amino acids stimulate net muscle protein synthesis in the elderly. *J Clin Invest* 101, 2000-2007.

Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB & Wolfe RR (2000) The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 4481-4490.

Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE (2001) Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes. Res.* 9: 414-417.

- W -

Wainwright PE (2002) Dietary essential fatty acids and brain function : a developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc* 61 : 61-9.

Walrand S, Chambon-Savanovitch C, Felgines C, Chassagne J, Raul F, Normand B, Farges MC, Beaufriere B, Vasson MP & Cynober L (2000) Aging: a barrier to renutrition? Nutritional and immunologic evidence in rats. *Am J Clin Nutr* 72, 816-824.

Walrand S, Guillet C, Gachon P, Giraudet C, Rousset P, Vasson MP, Boirie Y (2005) Insulin regulates protein synthesis rate in leukocytes from young and elderly healthy humans. *Clin Nutr.* 24(6):1089-98.

Walrand S, Guillet C, Salles J, Cano N, Boirie Y (2011) Physiopathological mechanism of sarcopenia. *Clin. Geriatr.Med.* 27: 365–385.

Walrand S, Zangarelli A, Guillet C, Salles J, Soulier K, Giraudet C, Patrac V, Boirie Y (2011b) Effect of fast dietary proteins on muscle protein synthesis rate and muscle strength in ad libitum-fed and energy-restricted old rats. *Br J Nutr.* 106(11):1683-90.

Wang FN, Ma CG, Zhang NX, Song HY (1999) Glucose and Insulin Regulate Leptin Expression in 3T3-F442A Adipocytes. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)*.31(3): 350–352.

Wang J, Liu R, Liu L, Chowdhury R, Barzilai N, Tan J, Rossetti L (1999) The effect of leptin on Lep expression is tissue-specific and nutritionally regulated. *Nat Med.* 5(8):895-9.

Wang JL, Chinookoswong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ (1999) Differential effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo. *Endocrinology* 140(5): 2117-24.

Wang Q, Somwar R, Bilan PJ, Liu Z, Jin J, Woodgett JR, Klip A (1999) Protein kinase B/Akt participates in GLUT4 translocation by insulin in L6 myoblasts. *Mol Cell Biol.*19(6):4008-18.

Warne PH, Viciano PR, Downward J (1993) Direct interaction of Ras and the aminoterminal region of Raf-1 in vitro. *Nature* 364(6435): 352-5.

Waters SB, Yamauchi K, Pessin JE (1993) Functional expression of insulin receptorsubstrate-1 is required for insulin-stimulated mitogenic signaling. *J Biol Chem.* 268(30):22231-4.

Weill P, Schmitt B, Chesneau G, Daniel N, Safraou F, Legrand P (2002) Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. *Ann. Nutr. Metab.,* 46(5):182-91

Welle S, Thornton C, Jozefowicz R & Statt M (1993) Myofibrillar protein synthesis in young and old men. *Am J Physiol* 264, E693-E698.

Westendorp, R.G.J (2006) What is healthy aging in the 21st century? *The American*

journal of clinical nutrition, 83(2): p. 404S-409S.

White CL, Whittington A, Barnes MJ, Wang Z, Bray GA, Morrison CD (2009) HF diets increase hypothalamic PTP1B and induce leptin resistance through both leptin-dependent and -independent mechanisms. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 296 (2) :E291-9.

White JR Jr, Campbell RK (2003) Insulin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am J Health Syst Pharm.* 1;60(11):1145-52

White MF (2003) Insulin signaling in health and disease. *Science.* 302 (5651) :17101.

White, M.F (2002) IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283, E413-22.

Wolf G, Trub T, Ottinger E, Groninga L, Lynch A, White MF, Miyazaki M, Lee J, Shoelson SE. (1995) PTB domains of IRS-1 and Shc have distinct but overlapping binding specificities. *J. Biol. Chem.* 270:27407-27410.

Wurtman JJ, Lieberman H, Tsay R, Nader T, Chew B (1988) Calorie and nutrient intakes of elderly and young subjects measured under identical conditions. *Journal of gerontology.* 43(6):B174-80.

- Y -

Yagami T (2006) Cerebral arachidonate cascade in dementia: Alzheimer's disease and vascular dementia. *Curr Neuropharmacol.*4(1):87-100.

Yamamoto N, Okaniwa Y, Mori S, Nomura M, Okuyama H (1991) Effects of a high-linoleate and a high-alpha-linolenate diet on the learning ability of aged rats. Evidence against an autoxidation-related lipid peroxide theory of aging. *J Gerontol.* 46 : B17-B22.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S (2002) Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine.*8 (11):1288-95.

Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, Hada Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awazawa M, Takamoto I, Froguel P, Tobe K, Nagai R, Ueki K and Kadowaki T(2007) Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat. Med.* 13: 332-339.

Yamauchi, T, Kamon, J, Waki, H, Imai, Y, Shimozawa, N, Hioki, K, Uchida, S, Ito, Y, Takakuwa, K., Matsui, J (2003) Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem* 278, 2461-2468.

Yarasheski KE, Zachwieja JJ & Bier DM (1993) Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women. *Am J Physiol* 265, E210- E214.

Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI (2002) The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging* 23 : 843-53.

Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI (1996) Essential fatty acids preparation (SR-3) improves Alzheimer's patients quality of life. *Int J Neurosci.*87(3-4):141-9.

Yenush L, Makati KJ, Smith-Hall J, Ishibashi O, Myers MG, Jr., White MF (1996) The pleckstrin homology domain is the principal link between the insulin receptor and IRS-1. *J. Biol. Chem.* 271: 24300-24306.

Yonezawa K, Ando A, Kaburagi Y, Yamamoto-Honda R, Kitamura T, Hara K, Nakafuku M, Okabayashi Y, Kadowaki T, Kaziro Y, Kasuga M (1994) Signal transduction pathways from insulin receptors to Ras. Analysis by mutant insulin receptors. *J Biol Chem.* 269(6): 4634-40.

Yu, B. P., Masoro, E. J (1982) Life span study of SPF Fischer 344 male rats fed ad libitum or restricted diets: longevity,

growth, lean body mass and disease. *J Gerontol* 37(2) 130-141.

Yu, C, Chen, Y, Cline, G.W., Zhang, D, Zong, H., Wang, Y., Bergeron, R., Kim, J.K, Cushman, S.W., Cooney, G.J (2002) Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 277, 50230-6.

- Z -

Zabolotny JM, Bence-Hanulec KK, Stricker-Krongrad A, Haj F, Wang Y, Minokoshi Y, Kim YB, Elmquist JK, Tartaglia LA, Kahn BB, Neel BG (2002) PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo. *Dev Cell.* 2(4): 489-95.

Zarubin T, Jiahuai HAN (2005) Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Research*, 15(1):11-18.

Zhang HH, Kumar S, Barnett AH, Eggo MC (2000) Tumour necrosis factor-alpha exerts dual effects on human adipose leptin synthesis and release. *Mol Cell Endocrinol.* 159(1-2):79-88.

Zhang JG, Farley A, Nicholson SE, Willson TA, Zugaro LM, Simpson RJ, Moritz RL, Cary D, Richardson R, Hausmann G, Kile BJ, Kent SB, Alexander WS, Metcalf D, Hilton DJ, Nicola NA, Baca M (1999) The conserved SOCS box motif in suppressors of cytokine signaling binds to elongins B and C and may couple bound proteins to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96(5): 2071-6.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L and Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 372: 425-432.

Zlokovic BV, Jovanovic S, Miao W, Samara S, Verma S, Farrell CL (2000) Differential regulation of leptin transport by the choroid plexus and blood-brain barrier and high affinity transport systems for entry into hypothalamus and across the blood-cerebrospinal fluid barrier. *Endocrinology* 141(4): 1434-41.