HAL
open science

Impact d'un régime riche en saccharose sur la sarcopénie chez le rat âgé ; Conséqences métaboliques au niveau hépatique et cérébral. Effets préventifs d'un mélange de micronutriments. Spécialité

Eva Gatineau

To cite this version:

Eva Gatineau. Impact d'un régime riche en saccharose sur la sarcopénie chez le rat âgé ; Conséqences métaboliques au niveau hépatique et cérébral. Effets préventifs d'un mélange de micronutriments. Spécialité. Médecine humaine et pathologie. Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I, 2015. Français. NNT : 2015CLF1MM14 . tel-01491088

HAL Id: tel-01491088

https://theses.hal.science/tel-01491088v1

Submitted on 16 Mar 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 BLAISE PASCAL UNIVERSITÉ D'AUVERGNE

2015 N° d'ordre

ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Thèse

Présentée à l'Université d'Auvergne

pour l'obtention du grade de DOCTEUR
(Décret du 5 juillet 1984)

Spécialité

Nutrition

soutenue le 20 octobre 2015

GATINEAU Éva

Impact d'un régime riche en saccharose sur la sarcopénie chez le rat âgé – Conséquences métaboliques au niveau hépatique et cérébral – Effets préventifs d'un mélange de micronutriments

Jury

Dr Dominique Dardevet, INRA, Clermont-Ferrand – Theix	Président
Dr Chantal Wrutniak-Cabello, INRA, Montpellier	Rapporteur
Pr Claire Gaudichon, AgroParisTech	Rapporteur
Dr Stéphanie Krisa, GESVAB, Université de Bordeaux	Examinateur
Dr Laurent Mosoni, INRA, Clermont-Ferrand – Theix	Directeur de thèse

Unité de Nutrition Humaine – UMR 1019
INRA Clermont-Ferrand – Theix
63122, Saint-Genès-Champanelle

Remerciements

Je tenais en premier lieu à adresser ma reconnaissance à Mesdames Claire Gaudichon et Chantal Wrutniak - Cabello qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail.

Je souhaite aussi remercier Dominique Dardevet, président de ce jury de thèse. J'espère que ta première « présidence » te laissera un bon souvenir.

Je voulais également remercier Madame Stéphanie Krisa qui a accepté de faire partie de mon jury et sans l'aide de qui je n'aurais peut être pas eu la chance de pourvoir réaliser une thèse.

Je suis évidemment très reconnaissante à mon directeur de thèse Laurent Mosoni, sans qui ce travail n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir fait confiance tout au long de cette thèse et d'avoir été toujours aussi disponible. Malgré nos points de vue parfois différents la discussion est toujours restée ouverte entre nous, que le sujet soit scientifique ou non d'ailleurs, et je vous remercie pour ça !

Merci également à Stéphanie Krisa, Bertrand Friguet et Sergio Polakof membres de mon comité de thèse pour leurs conseils qui ont amené un regard extérieur sur la direction à prendre.

Je tenais à remercier plus particulièrement Sergio qui m'a beaucoup apporté au cours de cette thèse, et qui s'est révélé toujours disponible et prêt à m'aider. Tes conseils et tes remarques m'ont poussé à explorer de nouvelles pistes, à m'interroger différemment et à aller plus loin dans ce travail. Et bien sûr merci pour les déjeuners pleins de débats !

À ce titre je remercie aussi Dominique, qui en plus d'animer nos repas, m'a accueilli au sein de l'équipe « Nutrim haut », a toujours laissé sa porte grande ouverte en cas de besoin, et a lui aussi participer à ce que je porte un autre regard sur mes travaux.

Je voulais également remercier Isabelle Savary-Auzeloux toujours attentive, à l'écoute et prête à proposer son aide (et à distiller quelques conseils avisés, l'air de rien).

Un immense merci à mes deux collègues de bureau Fabienne et Jérémie, pour la partie labo bien sûr (en particulier à mon professeur d'activité enzymatique Jérémie), mais surtout pour le reste...

Merci à Nordine Hafnaoui qui m'a « sauvée » plus d'une fois quand le (capricieux) Genevac faisait des siennes.

Autre appareil, autres problèmes, mais toujours quelqu'un pour venir à ma rescousse : merci à Caroline, experte Pentra, toujours là pour donner un coup de main !

Je remercie Christophe Del'Homme, Arlette Cissoire, Philippe Dennis, Philippe Lhoste et Medhi Djelloul-Mazouz pour leur aide sur l'expérimentation animale et le soin apporté aux animaux.

Merci à Marianne pour s'être montrée disponible pour m'aider aussi bien en culture cellulaire que pour les Western Blot.

Je suis également reconnaissante à Frédéric Capel et Brigitte Laillet pour leur aide précieuse pour le dosage des lipides.

Je remercie bien sûr les membres de l'équipe « Nutrim haut » et de l'équipe protéolyse que je n'ai pas encore cités et avec qui j'ai pu travailler, ou seulement discuter autour d'un café ou de mots croisés !

Je tenais à remercier Aline Hoareau, stagiaire motivée et efficace qui m'a été d'une grande aide pour les extractions des protéines du cerveau qui se sont révélées plus compliquées que prévu.

Bien sûr je voulais adresser un petit mot à mes collègues thésardes et post-doc qui m'ont abandonné les unes après les autres, Roza, Aurélia et Carole. Merci pour ces moments de détente à parler de bien d'autres choses que de boulot. Évidemment je remercie en particulier Carole qui a été et continue à être bien plus qu'une collègue, et sans qui ces trois années sur Clermont-Ferrand n'auraient pas été les mêmes.

Merci aussi à tous les amis que ces looongues études m'ont permis de rencontrer, d'Angers à Bordeaux, en passant par Quimper, et qui ont fait que ces années resteront pour moi des souvenirs merveilleux. Bien sûr, je n'ai pas eu besoin d'aller bien loin pour trouver mes amis les plus proches. Donc merci à tous les Noyantais, pour ces bons moments à chaque retour en « terre d'origine », qui me font le plus grand bien. Évidemment, Val un merci encore plus grand à toi, qui a toujours été là pour moi. Merci pour ton soutien qui me donne confiance en moi, rien que pour ça, une partie du mérite de ce travail te revient !

Enfin je voulais remercier ma famille. Mon frère bien sûr, dont je suis très fière mais surtout mes parents, qui m'ont permis d'être là aujourd'hui. Merci pour votre soutien même les jours où je ne le méritais peut être pas. Je ne pourrais jamais vous dire à quel point je vous suis reconnaissante, mais j'espère que vous le savez.

RESUME

Au cours du vieillissement l'organisme subit de nombreuses altérations, dont une perte de masse et de fonction musculaire appelée sarcopénie. Ses causes sont multifactorielles, et certains facteurs tels que le stress oxydant, l'inflammation et la résistance à l'insuline peuvent induire une altération de la stimulation de la synthèse protéique musculaire postprandiale, qui participe à cette perte de masse musculaire liée à l'âge. Or, ces dérégulations peuvent être induites par une alimentation trop riche en sucres ajoutés, caractéristique des habitudes alimentaires actuelles et qui pourrait donc accélérer le vieillissement. Pourtant, à ce jour peu d'études ont analysé les effets combinés du vieillissement et du sucre, et à notre connaissance, aucune ne s'est intéressée à ces effets sur la sarcopénie. Ainsi, notre objectif au cours de cette thèse a été de déterminer si un régime riche en sucres ajoutés était capable d'accélérer la sarcopénie. Il était également intéressant d'étudier les effets combinés du vieillissement et d'un régime riche en sucre sur d'autres tissus qui semblent particulièrement exposés, le foie, et le cerveau. Enfin, nous avons également voulu analyser les effets préventifs d'un mélange de micronutriments, à la fois *in vivo* et *in vitro*.

Pour cela, des rats Wistar âgés de 16 mois ont été nourris durant 5 mois avec un régime composé à 62% de saccharose, supplémenté ou non en rutine, vitamine A, vitamine E, vitamine D, zinc, et sélénium, et comparés à des rats âgés nourris avec un régime contrôle, supplémenté ou non avec les mêmes micronutriments. Nous avons également inclu un groupe de témoins adultes (8 mois), nourris avec un régime contrôle. En outre, nous avons testé le potentiel anti-inflammatoire des micronutriments cités, *in vitro* sur culture de cellules musculaires C2C12.

Nous avons pu constater que le régime riche en saccharose a accéléré la perte de masse musculaire liée à l'âge en altérant la synthèse protéique musculaire post prandiale, vraisemblablement *via* l'insulino-résistance induite. En effet, le régime riche en saccharose a eu peu d'effets sur le stress oxydant et l'inflammation, alors qu'il a significativement altéré la sensibilité à l'insuline. Il a également entraîné un gain de masse grasse et une augmentation marquée des triglycérides hépatiques et plasmatiques, qui pourraient en partie s'expliquer par une modification de l'activité des enzymes du métabolisme lipidique dans le foie. Au niveau cérébral, la surconsommation de fructose a entraîné une diminution de la concentration protéique qui ne semble pas due à un défaut de synthèse protéique (en revanche, l'âge a, lui, engendré une diminution du taux de synthèse protéique). La supplémentation en micronutriments a eu peu d'effets sur le stress oxydant et l'inflammation *in vivo*, bien qu'elle ait permis d'inhiber la production de monoxyde d'azote induite *in vitro*. Elle n'a pas eu d'effet sur la masse maigre mais a permis de limiter la prise de masse grasse, notamment en inhibant l'activité de la fatty acid synthase (FAS) hépatique. Elle a également restauré la synthèse protéique diminuée au cours du vieillissement dans le cerveau.

Ainsi, cette thèse a permis de montrer qu'un régime riche en sucres ajoutés accélère la sarcopénie chez le rat âgé mais entraîne également des altérations au niveau hépatique et cérébral. La prévention par les micronutriments testés reste malgré tout limitée, et la meilleure prévention serait donc certainement de limiter la consommation de sucres ajoutés.

COMMUNICATIONS AFFICHEES

Mosoni L, **Gatineau E**, Gatellier P, Migné C, Savary-Auzeloux I, Rémond D, Rocher E., Dardevet D. Seule une augmentation des apports protéiques permet de ralentir la perte de masse maigre chez des rats en vieillissement. Journées Francophones de Nutrition, Bordeaux, 2013.

Gatineau E, Savary-Auzeloux I, Polakof S, Dardevet D, Mosoni L. Une consommation chronique élevée en sucre accélère la sarcopénie et perturbe la sensibilité à l'insuline et la stimulation post-prandiale de la synthèse protéique musculaire chez le rat âgé. Journée scientifique du CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, 2014 et Journées Francophones de Nutrition, Bruxelles, 2014.

Gatineau E, Capel F, Polakof S, Dardevet D, Mosoni L. Effets d'une supplémentation en antioxydants sur le métabolisme lipidique hépatique de rats âgés, nourris avec un régime riche en saccharose. Journées de l'École Doctorale Science de la Vie, Santé, Agronomie et Environnement, Clermont-Ferrand, 2015.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations 9
Liste des illustrations 13
Introduction générale 1
Étude bilbiographique
Chapitre I – Vieillissement et fonte musculaire 3
1. Introduction 3
2. La sarcopénie 4
2.1. Définition 4
2.2. Prévalence 4
2.3. Conséquences 5
2.4. Caractéristiques de la sarcopénie 5
2.4.1. Perte de masse 5
2.4.2. Perte de force et fonction 6
2.4.3. Altération de la structure 6
3. Effets du vieillissement sur le métabolisme protéique musculaire 7
3.1. Métabolisme protéique – Données générales 7
3.1.1. Protéosynthèse 7
3.1.2. Protéolyse 7
3.2. Altération du renouvellement protéique au cours du vieillissement 9
3.2.1. Effet du repas 9
3.2.2. Effet des acides aminés 10
3.2.3. Effet de l'insuline 12
3.3. Stress oxydant et métabolisme protéique musculaire 13
3.3.1. Données générales 13
3.3.2. Les systèmes antioxydants enzymatiques 15
3.3.3. Stress oxydant musculaire et sarcopénie 16
3.3.4. Mécanismes d'action des ROS sur le métabolisme protéique 16
3.4. Glycation des protéines et métabolisme protéique musculaire 18
3.4.1. Données générales 18
3.4.2. AGEs et sarcopénie 18
3.5. Inflammation et métabolisme protéique musculaire 19
3.5.1. Données générales 19
3.5.2. Inflammation et sarcopénie 20
3.5.3. Inflammation et altération du métabolisme protéique 20

3.6. Autres facteurs impliqués dans les changements du métabolisme protéique musculaire 21
3.6.1. Hormones 21
3.6.2. Activité physique 22
3.6.3. Altérations des jonctions neuromusculaires 24
3.6.4. Extraction splanchnique 24
Chapitre II – Le régime riche en sucres ajoutés : un accélérateur du vieillissement ? . 26
1. Données générales 26
1.1. La consommation de sucres ajoutés 26
1.2. Le fructose : structure et source de consommation 27
2. Métabolisme du fructose 27
2.1. Absorption 27
2.2. Métabolisme hépatique 28
2.3. Effets du fructose sur le métabolisme lipidique 30
2.3.1. Carrefour entre métabolisme du fructose et synthèse lipidique 30
2.3.2. Régulation des facteurs de transcriptions et synthèse lipidique 30
2.3.3. Régulation des facteurs de transcriptions et oxydation des lipides 32
3. Les effets d'un régime riche en fructose : un vieillissement accéléré ? 33
3.1. Stress oxydant 33
3.2. Glycation des protéines 34
3.3. Inflammation 35
3.4. Dyslipidémie 36
3.5. Stéatose hépatique non alcoolique 38
3.6. Sensibilité à l'insuline et tolérance au glucose 39
3.6.1. Altération du métabolisme glucidique 39
3.6.2. Cinétique de mise en place de l'insulino-résistance 41
3.6.3. Mécanismes de l'insulino-résistance 42
3.7. Hypertension artérielle 43
3.8. Prise de poids et satiété 44
3.9. Atteinte du système nerveux central 46
3.10. Sarcopénie 49
Chapitre III – Intérêt d'une supplémentation en micronutriments 51
1. Vitamine E 52
1.1. Données générales et rôle antioxydant 52
1.2. Effet sur l'inflammation 52

1.3. Effet sur le métabolisme glucidique 52
1.4. Effet sur les altérations liées à l'âge 52
1.5. Autres propriétés métaboliques 53
2. Sélénium 53
2.1. Données générales et rôle antioxydant 53
2.2. Effet sur l'inflammation 54
2.3. Effet sur le métabolisme glucidique 54
2.4. Effet sur les altérations liées à l'âge 54
2.5. Autres propriétés métaboliques 55
3. Zinc 55
3.1. Données générales et rôle antioxydant 55
3.2. Effet sur le métabolisme glucidique 56
3.3. Effet sur le métabolisme lipidique 56
3.4. Effet sur les altérations liées à l'âge 56
4. Rutine 57
4.1. Données générales et rôle antioxydant 57
4.2. Effet sur l'inflammation 57
4.3. Effet sur le métabolisme glucidique 57
4.4. Effet sur le métabolisme lipidique 58
4.5. Effet sur les altérations liées à l'âge 58
4.6. Autres propriétés métaboliques 59
5. Vitamine A 59
5.1. Données générales 59
5.2. Effet sur le métabolisme glucidique 60
5.3. Effet sur le métabolisme lipidique 60
5.4. Effet sur les altérations liées à l'âge 60
6. Vitamine D 61
6.1. Données générales 61
6.2. Effet sur le métabolisme glucidique 61
6.3. Effet sur les altérations liées à l'âge 61
6.4. Autres propriétés métaboliques 62
7. Associations de micronutriments 63
Conclusion de l'étude bibliographique 64
Travail expérimental
Objectifs 65

Présentation du protocole expérimental....66
Résultats....69
Publication n°1....70
Résultats complémentaires....80
1. Objectifs....80
2. Matériels et méthodes....80
2.1. Entretien de la lignée cellulaire....80
Composition des milieux de culture....80
2.2. Conditions expérimentales....81
2.3. Test de viabilité cellulaire....82
2.4. Dosage du monoxyde d'azote (NO)....82
2.5. Analyse statistique....82
3. Résultats et discussion....82
3.1. Induction de l'inflammation....82
3.2. Viabilité cellulaire....83
3.3. Inhibition de l'inflammation – Composés seuls....84
3.4. Inhibition de l'inflammation – interactions....85
3.5. Conclusion....87
Publication n°2....88
Publication n°3....112
Conclusion générale et perspectives
Annexes
Annexe 1 : Composition des régimes....137
Références....139

LISTE DES ABREVIATIONS

4E-BP1: Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1

ACC: Acétyl coenzyme A carboxylase

ACLY: ATP-citrate lyase

ACOX: Acyl coenzyme A oxydase

AND: Acide désoxyribonucléique

AGEs: Advanced Glycation End products

AgRP: Agouti related protein

AGS: Acide gras saturé

AIF: Apoptosis inducing factor

Akt: Protéine kinase B

ALT: Alanine aminotransférase

AMP: Adénosine mono-phosphate

AMPK : Adénosine mono-phosphate kinase

ApoB: Apolipoprotéine B100

APP: β amyloid precursor protein

ARNm : Acide ribonucléique messager

ARNt : Acide ribonucléique de transfert

AST : Aspartate aminotransférase

ATP : Adénosine tri-phosphate

βA: Peptide β amyloïde

BIA: Bio-electrical impedance analysis

CART: Cocaine- and amphetamine-regulated transcript

CAT : Catalase

CHREBP : Carbohydrate response element binding protein

CML : Carboxyméthyl lysine

CoA : Coenzyme A

CPT-1 : Carnitine Palmitoyl Transferase 1

CRP : Protéine C réactive

DG : Diacylglycérol

DHAP : Di-hydroxyacétone phosphate

DNL: Lipogénèse *de novo*

DXA: Dual energy X-Ray absorptiometry

eEF2: Eukaryotic elongation factor 2

eIF4E: Eukaryotic translation initiation factor 4E

eNOS: NO synthase endothéliale

ERK1/2: extracellular signal regulated kinase 1/2

EWGSOP: European Working Group on Sarcopenia in Older People

FAS: Fatty acid synthase

FoxO: Forkhead box

GH : Growth hormone

Glut-2 : Transporteur de glucose 2

Glut-5 : Transporteur de glucose et de fructose 5

Glut-4 : Transporteur de glucose 4

GPAT : Glycérol-3-phosphate acyltransférase

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSK-3β: Glycogène synthase kinase 3β

GSSG : Disulfure de glutathion ou Glutathion oxydé

H_2O_2: Peroxyde d'hydrogène

HDL: High density lipoprotein

HFCS: High fructose corn syrup

HMGCoA: 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A

IGF-1: Insulin like growth Factor-1

IGF-1: Insuline like growth factor 1

IkB: inhibiteur de NF-κB

IKK: IkB kinase

IL-1β : Interleukin-1β

IL-6 : Interleukin-6

iNOS : NO synthase inductible

INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques

IR : Insulino résistance

IRM : Imagerie à résonnance magnétique

IRS-1: Insulin receptor substrate 1

IRS-2: Insulin receptor substrate 2

JNK: c-Jun NH(2)-terminal kinase

Km: Constante de Michaelis

KO: Knock-out

LDL: Low density lipoprotein

LPS : Lipopolysaccharide

LXR : récepteurs nucléaires des oxystérols

MAFbx: V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B

MAPK: mitogen-activated protein kinases

MDA: malondialdéhyde

mTOR: mammalian target of rapamycin

MuRF1: Muscle ring-finger protein 1

NAD(P)H: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NF-κB: Facteur nucléaire-kappa B

NIH: Foundation for the national institutes of health sarcopenia project

NO : Moxyde d'azote

NPY : Neuropeptide Y

Nrf2: Nuclear factor erythroid-derived 2

$O^{\bullet -}_2$: anion superoxyde

OGTT : Test de tolérance orale au glucose

$OH^{\bullet}$: radical hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

p70-S6K1: Ribosomal protein S6 kinase beta-1

PGC-1β: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1β

PGE2: Prostaglandin E2

PI3-K: Phosphatidyl-Inositol-3-kinase

PK: Pyruvate kinase

PKC: Protéine kinase C

POMC : Proopiomélanocortine

PPA2 : Protéine phosphatase 2A

PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor

RAGE: Receptor for advanced glycation end products

RAR: Retinoic acid receptor

RNS: Reactive nitrogen species

ROO-: radicaux peroxyles

ROS: Espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species)

RXR : Retinoids X receptor

SCAP: SREBP cleavage activating protein

SHNA : Stéatose hépatique non alcoolique

SNC : Système nerveux central

SOD: Superoxyde dismutase

SPPB: Short physical performance battery

SREBP-1c: Sterol regulatory response element binding protein 1c

SREBP-2: Sterol regulatory response element binding transcription Factor 2

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

TG: Triglycérides

TNF-α : facteur de nécrose tumorale

UPS : système ubiquyitine protéasome dépendant

VDR : Récepteur à la vitamine D

VLDL: Very low density lipoprotein

Vmax : Vitesse initiale maximale

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Pyramides des âges en 2015 et 2060 en France

Figure 2 : Exemple de dynamomètres utilisés pour mesurer la force musculaire par grip test chez l'homme et chez le rongeur

Figure 3 : Coupe de muscle chez l'homme adulte et l'homme âgé

Figure 4 : Évolution de la masse, de la force et de la puissance musculaire au cours de l'âge

Figure 5 : Taille des fibres musculaires chez le sujet jeune et le sujet âgé

Figure 6 : Proportion des différents types de fibres musculaires chez le sujet jeune et le sujet âge

Figure 7 : Schéma simplifié de l'activation de la voie mTOR par la leucine, l'insuline et l'insulin like growth factor-1.

Figure 8 : Concentration plasmatique en leucine après ingestion de protéines de lactosérum ou de caséine

Figure 9 : Production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Figure 10 : Régulation du métabolisme protéique par les espèces réactives de l'oxygène

Figure 11 : Activation de la voie NF-κB

Figure 12 : Estimation de la consommation de fructose aux États-Unis

Figure 13 : Absorption intestinale du fructose et du glucose

Figure 14 : Métabolisme hépatique du fructose et conséquences sur le métabolisme lipidique

Figure 15 : Formation des α-oxaldéhydes et de la carboxyméthyl lysine (CML) à partir du glyceraldehyde et des bases de Schiff

Figure 16 : Mécanismes d'induction de l'insulino résistance par les acides gras dans le muscle squelettique et le foie

Figure 17 : Régulation de la prise alimentaire par les hormones oréxigènes et anorérigènes

Figure 18 : Formule de l'α-tocophérol

Figure 19 : Formules de la sélénocystéine et de la sélénométhionine

Figure 20 : Influence du zinc sur la voie de signalisation de l'insuline

Figure 21 : Formules de la quercétine et de la rutine

Figure 22 : Métabolisme de la vitamine A

Figure 23 : Métabolisme de la vitamine D

INTRODUCTION GENERALE

En France, le nombre de personnes âgées ne cesse d'augmenter, et à ce vieillissement de la population s'ajoute des changements de mode de vie qui ont considérablement transformé la population depuis les années 1970. Parmi ces changements, on note tout particulièrement une modification des habitudes alimentaires, avec des régimes souvent plus riches en graisses et en sucres ajoutés. Si pendant de nombreuses années les graisses ont été tenues pour responsables de l'augmentation de la prévalence des maladies métaboliques, aujourd'hui les sucres ajoutés, et en particulier le fructose, sont à leur tour pointés du doigt. En effet, l'augmentation de la consommation de fructose a été corrélée dans le temps à l'augmentation de la prévalence de l'obésité et du syndrome métabolique, poussant plusieurs auteurs à s'interroger sur les conséquences d'un régime riche en fructose. Bien que les résultats restent variables et controversés, du fait de l'hétérogénéité des protocoles, il semblerait que le fructose soit capable d'induire un grand nombre d'altérations métaboliques, telles que la résistance à l'insuline, la dyslipidémie, l'inflammation, l'augmentation de la tension artérielle…Or, la majorité de ces perturbations sont également observées au cours du vieillissement normal. Il parait donc intéressant de voir si un régime riche en sucre va se comporter comme un accélérateur des effets du vieillissement.

C'est la raison pour laquelle, durant cette thèse, nous nous sommes intéressés aux effets combinés du vieillissement et d'un régime riche en sucre sur la sarcopénie, avec pour hypothèse que ce régime risquait de l'accélérer. Pour comprendre les mécanismes mis en jeu, nous avons cherché à connaître les modifications induites sur le métabolisme, et en particulier le métabolisme protéique. C'est pourquoi nous avons mesuré les changements dans la réponse au repas de la synthèse protéique musculaire, paramètre majeur des mécanismes de la sarcopénie.

Pour connaître l'impact métabolique de ce régime riche en sucre, il paraissait essentiel de bien analyser ses effets sur le foie, premier organe touché. Nous avons donc analysé les perturbations du métabolisme lipidique hépatique, mais aussi du métabolisme protéique, peu étudié dans ce contexte.

Enfin, nous avons profité de cette expérience pour analyser les effets du vieillissement et d'un régime riche en sucre dans le cerveau. Cet organe est en effet particulièrement sensible aux effets du vieillissement, et son métabolisme protéique reste très peu étudié.

Nous avons également voulu proposer une stratégie nutritionnelle pour lutter contre les effets supposés délétères du régime riche en sucre en testant les effets d'une supplémentation en micronutriments. En effet, un mélange de rutine et

d'autres micronutriments avait pu améliorer la synthèse protéique musculaire chez des rats âgés (*Marzani et al., 2008*). Cette supplémentation en micronutriments paraissait donc prometteuse pour limiter les effets délétères possibles d'un régime riche en sucre sur la masse musculaire. Nous avons donc choisi de tester une supplémentation en rutine, zinc, sélénium, vitamines A, D et E à la fois dans un modèle de rats âgés nourris avec un régime riche en sucre, mais aussi dans un modèle de cellules C2C12 en culture afin de pouvoir mieux préciser les propriétés de chaque élément du mélange. Là aussi, notre objectif principal a été le muscle, mais les propriétés intéressantes de ces micronutriments, qui seront développées par la suite, devaient leur permettre de limiter également les effets délétères d'un régime riche en sucre sur le foie et le cerveau.

Ainsi, au cours de cette thèse, nous avons étudié chez le rat les effets combinés du vieillissement, de l'état nutritionnel, d'un régime riche en sucre, et d'une supplémentation en micronutriments sur l'inflammation systémique, la sensibilité à l'insuline, la composition corporelle et tissulaire, le métabolisme protéique (muscle, foie, cerveau), le métabolisme lipidique (foie), le stress oxydant et la glycation des protéines (corps entier, muscle, foie, cerveau). En complément, nous avons analysé plus précisément les propriétés anti-inflammatoires des micronutriments utilisés dans un modèle de culture de cellules.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

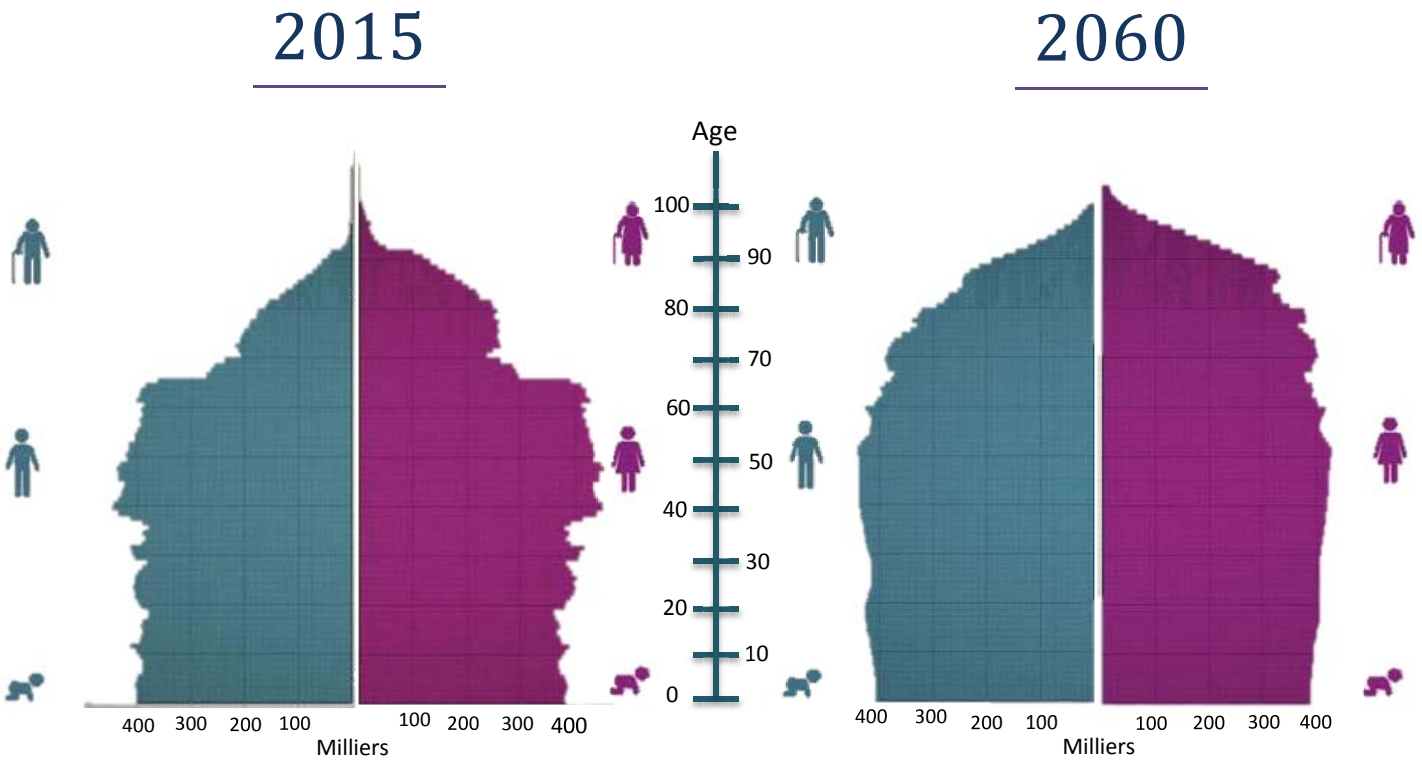


Figure 1 : Pyramides des âges en 2015 et 2060 en France illustrant le vieillissement de la population. (*Insee, Estimations de population, Projections de population 2007-2060*).

CHAPITRE I – VIEILLISSEMENT ET FONTE MUSCULAIRE

1. INTRODUCTION

L'allongement de l'espérance de vie, grâce aux progrès médicaux, à l'amélioration de la nutrition et à la diminution de la pénibilité au travail, a engendré une augmentation du pourcentage de personnes de plus de 60 ans dans la population. Les dépenses publiques relatives à la santé et au financement des retraites en sont considérablement augmentées, faisant du vieillissement de la population un enjeu de santé publique majeur, au niveau mondial et national. En effet, selon l'OMS, en 2000 environ 11% de la population mondiale était âgée de 60 ans et plus, soit environ 65 millions de personnes et ce chiffre devrait atteindre 2 milliards d'ici 2050 *("OMS | Vieillissement et qualité de la vie," 2014)*. La France est particulièrement touchée par le problème du vieillissement puisqu'elle se situe au 8ème rang des pays européens en ce qui concerne la proportion des 65 ans et plus, mais surtout au 1er rang pour les 80 ans et plus. Selon l'Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE), si la progression du vieillissement continue au rythme actuel, la proportion des plus de 65 ans atteindra 27% d'ici 2060, contre à peine 19% aujourd'hui (**Figure 1**). L'espérance de vie pourra quant à elle atteindre 86 ans chez les hommes et 91 ans chez les femmes *("Insee - Population - Projections à l'horizon 2060 - Pyramide des âges," 2011)*.

Le vieillissement est défini par l'ensemble des processus physiologiques qui conduisent au déclin progressif de la structure et des fonctions de l'organisme. En 1996, Forette l'a défini comme « la somme des modifications (altérations) anatomiques, histologiques et physiologiques, survenues au cours du temps, au sein de différents types cellulaires, dans différents organes et systèmes ». Le vieillissement est un processus lent et normal, à distinguer de l'état pathologique avec lequel il interagit fortement. Il est en partie programmé et déterminé par des facteurs génétiques ; ainsi la longévité est dépendante de l'espèce et peut être très variable d'une espèce à l'autre. Mais il résulte également d'une détérioration progressive qui, si elle ne peut être évitée, peut être accélérée par le stress oxydant et la glycation non enzymatique des protéines, eux même influencés par les facteurs environnementaux auxquels est soumis l'organisme.

L'organisme entier est touché par le vieillissement, cependant certains tissus y sont particulièrement sensibles. C'est notamment le cas du muscle squelettique, qui va être considérablement modifié au cours de l'âge. En effet, même chez l'homme sain, l'avancée en âge s'accompagne d'une diminution de la fonction et de la masse musculaire, connue sous le terme sarcopénie.

2. LA SARCOPENIE

2.1. Définition

La sarcopénie a été définie pour la première fois par Rosenberg en 1989. Ce terme est issu du grec *sarx* signifiant chair et *penia* manque *(Rosenberg, 1989)*. Elle fait, à l'origine, référence à la perte de masse musculaire squelettique due à l'âge. Plusieurs auteurs se sont donc penchés sur l'établissement d'un indice permettant d'établir le diagnostic de la sarcopénie basé sur la masse musculaire. Ainsi, dans un premier temps, la sarcopénie était évaluée à partir de la masse maigre appendiculaire rapportée à la taille au carrée *(Baumgartner et al., 1998)* ou à la masse corporelle *(Janssen et al., 2002)*, en comparant ces valeurs à celles d'une population adulte (âgée de 18 à 40 ans en moyenne). La définition de la sarcopénie a depuis été élargie pour tenir compte de la diminution de la fonctionnalité musculaire. L'indice établi par le groupe de travail européen sur la sarcopénie chez les personnes âgées (European Working Group on Sarcopenia in Older People – EWGSOP) prend donc en compte, en plus de la masse musculaire, la force musculaire ainsi que la performance physique *(Cruz-Jentoft et al., 2010)*. Récemment, le projet sur la sarcopénie de la fondation du NIH (Foundation for the National Institutes of Health Sarcopenia Project), considère qu'une personne est sarcopénique lorsque sa force musculaire évaluée par grip test est inférieure à 26 kg pour un homme et 16 kg pour une femme, et que sa masse maigre appendiculaire ajustée par rapport à l'indice de masse corporelle est inférieure à 0,789 pour les hommes ou à 0,512 pour les femmes *(Studenski et al., 2014)*.

2.2. Prévalence

Le nombre de critères d'évaluation de la sarcopénie ainsi que la variabilité des cohortes (origines, sexe, âge,…) expliquent la difficulté d'établir la prévalence de la sarcopénie chez les personnes âgées. Dans une revue du groupe de travail sur la sarcopénie, Fielding montre que selon les études elle varie de 3 à 28%, dans des populations où l'âge d'inclusion variait de 60 à 70 ans *(Fielding, 2011)*. En Corée, elle est par exemple de 11,9% chez les femmes et de 12,1% chez les hommes dans une population âgée de 65 ans et plus, lorsque la sarcopénie est définie comme une masse musculaire appendiculaire divisée par le poids et multipliée par 100, inférieure de deux écarts-types à celle d'une population âgée de 20 à 39 ans *(Ryu et al., 2013)*. En appliquant les critères définis par le EWGSOP, elle a été évaluée à 4,6% chez les hommes et 7,9% chez les femmes dans une cohorte britannique âgée en moyenne de 73 ans *(Patel et al., 2013)*. Cependant, même en utilisant la même définition, les chiffres peuvent varier en fonction des outils de diagnostic utilisés pour mesurer la masse musculaire, la force et la performance physique *(Beaudart et al., 2015)*. La masse musculaire appendiculaire peut être mesurée par Dual Energy X-Ray

Figure 2 : **Exemple de dynamomètres utilisés pour mesurer la force musculaire par grip test chez l'homme et chez le rongeur.**

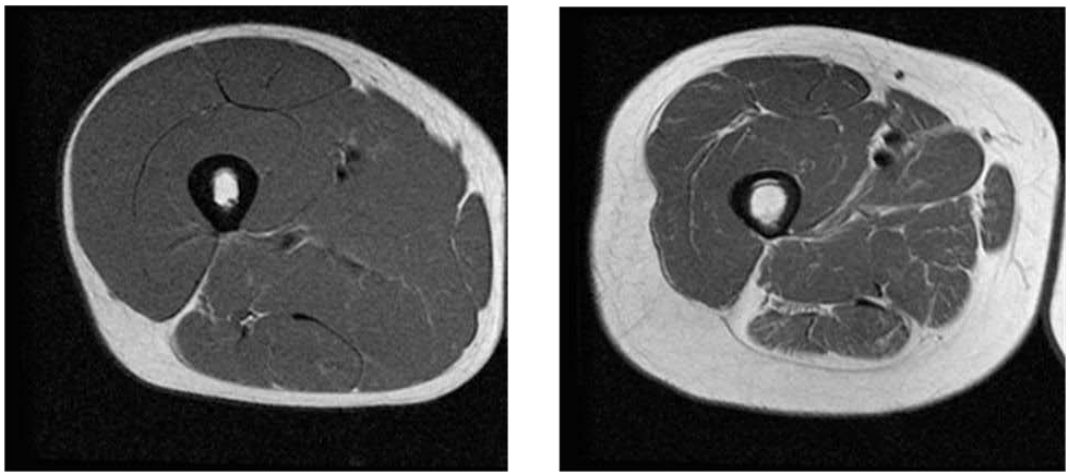


Figure 3 : Coupe de muscle de la jambe chez un homme de 25 ans (à gauche) et de 63 ans (à droite) d'indice de masse corporelle similaire. (*Buck Institute*)

Absorptiometry (DXA) mais aussi par Bio-electrical impedance analysis (BIA). La force musculaire est, elle, le plus souvent évaluée par « grip test » (test de serrage) à l'aide de dynamomètres (**Figure 2**). Enfin, la performance physique est fréquemment estimée grâce au SPPB (Short Physical Performance Battery), qui est la somme des scores obtenus aux trois tests que sont la vitesse de marche sur 4 mètres, le lever de chaise et le test d'équilibre ou bien seulement à partir de la vitesse de marche *(Guralnik et al., 2000a; Lauretani et al., 2003)*. Ainsi, malgré un effort de normalisation on comprend pourquoi la prévalence de la sarcopénie reste floue et peut varier de 3 à 28%. Cependant, ses conséquences sont, elles, bien identifiées.

2.3. Conséquences

Le muscle assure différentes fonctions au sein de l'organisme, dont la première est celle de maintien et de locomotion. L'altération de cette fonction au cours du vieillissement est responsable de la diminution des performances physiques observée chez les personnes sarcopéniques. Elle entraîne des difficultés accrues dans les activités de la vie quotidienne et donc un plus fort risque de dépendance et d'institutionnalisation *(Guralnik et al., 2000b; Tanimoto et al., 2013)*. La sarcopénie augmente également le risque de chute et d'hospitalisation *(Cawthon et al., 2009; Tanimoto et al., 2014)*. De plus, dans ces situations de stress et d'agression, le muscle représente une réserve d'urgence d'acides aminés mobilisés pour la synthèse des protéines de l'immunité. La sarcopénie entraîne donc une diminution des capacités de défense de l'organisme, augmentant ainsi la mortalité *(Volaklis et al., 2015)*. Cette augmentation de la mortalité résulte aussi du fait que la sarcopénie est souvent associée à des comorbidités telles que l'ostéoporose, l'insuffisance rénale ou encore l'insulino-résistance *(J. E. Kim et al., 2014)*.

La sarcopénie représente donc un problème de santé publique majeur avec des coûts importants *(Beaudart et al., 2014)*. En 2000, Janssen les estimaient à 18,5 millions de dollars aux États-Unis, soit environ 1,5% des dépenses totales de santé publique annuelles *(Janssen et al., 2004)*. Il a également été montré que la sarcopénie est associée à des coûts plus élevés d'hospitalisation après une chirurgie majeure *(Sheetz et al., 2013)*.

2.4. Caractéristiques de la sarcopénie

2.4.1. Perte de masse

La sarcopénie se caractérise en premier lieu par la perte de masse musculaire (**Figure 3**). Cette perte serait de 1 à 2% par an à partir de l'âge de 50 ans, menant à une diminution totale de 25 à 30% à l'âge de 70 ans *(Von Haehling et al., 2010)*. De ce fait, la masse musculaire qui représente environ 60% de la masse corporelle totale chez des jeunes adultes, n'en représente plus que 40% à l'âge de 70 ans *(Lexell et al.,*

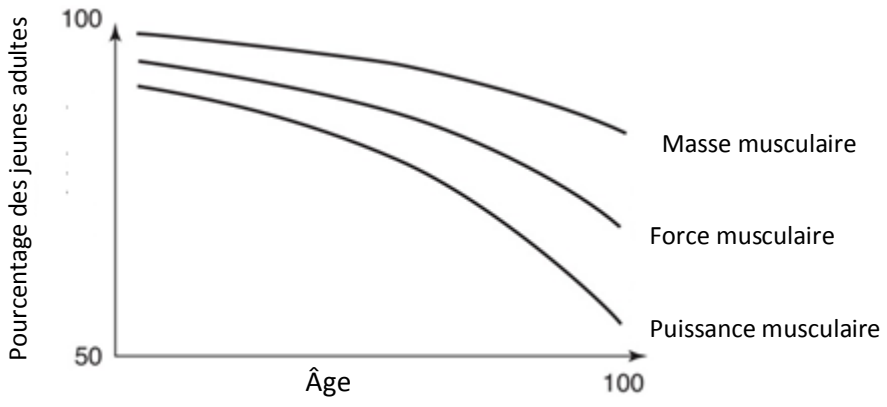


Figure 4 : **Évolution de la masse, de la force et de la puissance musculaire au cours de l'âge**, représentée en pourcentage des valeurs moyennes obtenues chez des jeunes adultes (adapté de *Barry et al., 2004*).

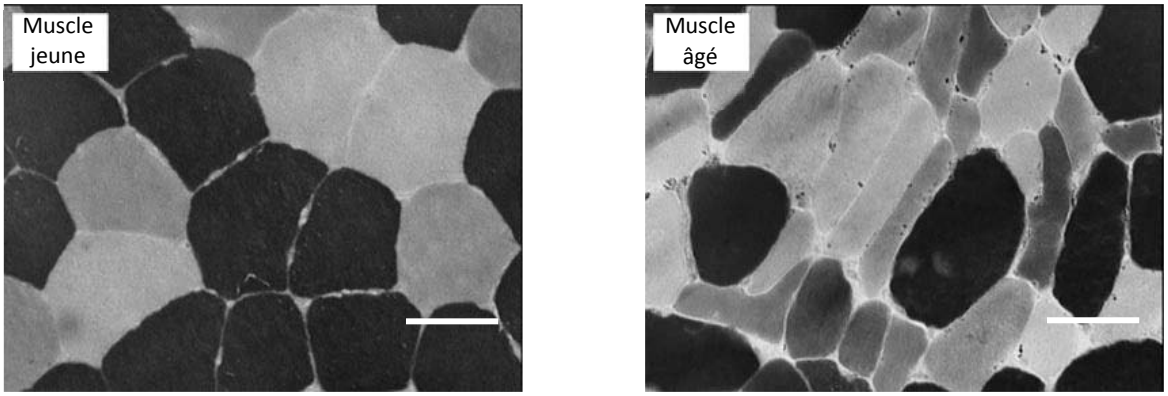


Figure 5 : Taille des fibres musculaires chez le sujet jeune (22 ans) et le sujet âgé (87 ans). En noir les fibres de type I, en blanc les fibres de type IIA et en gris les fibres de type IIB. On note une réduction de la taille des fibres avec l'âge plus marquée pour les fibres de type II que pour les fibres de type I. Échelle 1 barre = 50 µm *(Andersen, 2003).*

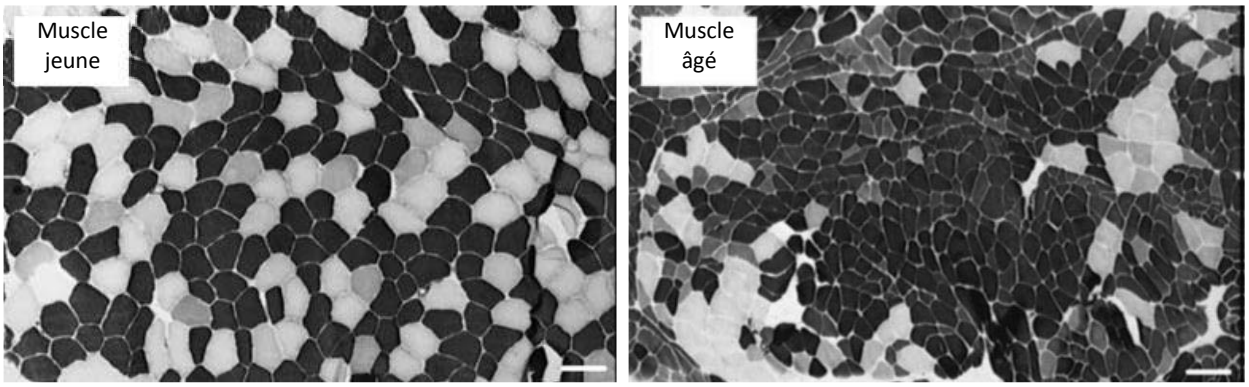


Figure 6 : Proportion des différents types de fibres musculaires chez le sujet jeune (22 ans) et le sujet âge (87 ans). En noir les fibres de type I, en blanc les fibres de type IIA et en gris les fibres de type IIB. On note une augmentation de la proportion de types I par rapport au type de type II dans le muscle âgé, ainsi qu'un regroupement par type de fibres. Échelle une barre = 100µm (*Andersen, 2003*).

1983). Les hommes et les femmes ne sont pas touchés de la même manière par cette perte de masse musculaire. En effet, elle interviendrait plus tardivement chez les femmes, relativement protégées jusqu'à la ménopause, transition à partir de laquelle la perte s'accélère *(Maltais et al., 2009)*. Elle serait plus rapide chez les hommes, qui disposent toutefois d'une masse musculaire initiale plus importante leur permettant de mieux faire face à la sarcopénie *(Gallagher et al., 1997)*. Par ailleurs, la diminution de masse musculaire est plus importante au niveau des membres inférieurs que des membres supérieurs *(Janssen et al., 2000)*.

2.4.2. Perte de force et fonction

La perte de force serait, elle, de 1,5% par an entre 50 et 60 ans et jusqu'à 3% par an au-delà de 60 ans *(Von Haehling et al., 2010)*. La perte de force excède donc la perte de masse, suggérant une perte d'efficacité musculaire, mesurée par une diminution de la force générée par unité de section musculaire *(Barry and Carson, 2004; Narici and Maffulli, 2010)* (**Figure 4**).

2.4.3. Altération de la structure

Le muscle squelettique est composé de différents types de fibres :

- Les fibres de type I, dites lentes, impliquées dans le maintien de la posture et très résistantes à la fatigue. Leur métabolisme est majoritairement oxydatif.
- Les fibres de type II, dites rapides, dédiées au mouvement de force et de rapidité. Elles sont subdivisées en fibres de type IIB dont le métabolisme est majoritairement glycolytique, et fibres de type IIA au métabolisme intermédiaire (oxydatif et glycolytique).

La proportion des types de fibres varie en fonction du muscle, mais également de l'âge. De manière générale, le nombre et la taille des fibres musculaires diminuent au cours du vieillissement, leur nombre pouvant être réduit de 50% entre l'âge de 20 et 80 ans *(Andersen, 2003; Lexell et al., 1986)* (**Figure 5**). Plus spécifiquement, si les fibres de type I semblent relativement préservées (perte de 1 à 25% selon les auteurs), les fibres de type II pourraient perdre jusqu'à 60% de leur surface *(Vandervoort, 2002)* (**Figure 6**). Pour certains auteurs, au moins dans certains muscles, la sarcopénie serait en grande partie le résultat de cette diminution de la proportion de fibre de type II au profit des fibres de type I *(Nilwik et al., 2013)*.

Au vu des conséquences importantes induites par la sarcopénie, il semble important de développer des stratégies capables de ralentir son apparition. Pour cela, il faut identifier les modifications qui apparaissent avec l'âge et qui conduisent à cette perte de masse et de fonction musculaire, c'est pour cette raison que l'altération du métabolisme protéique musculaire au cours du vieillissement a été très étudiée.

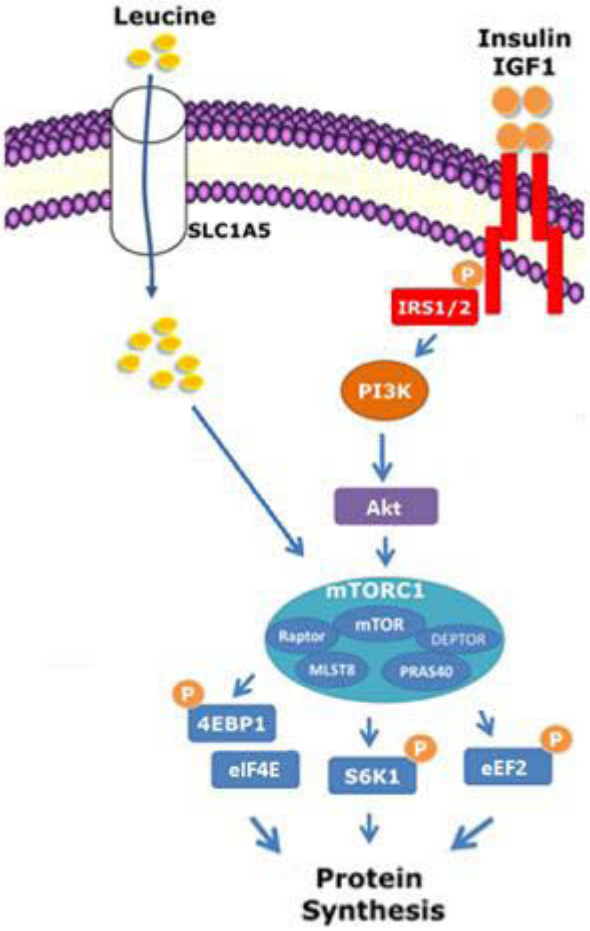


Figure 7 : Schéma simplifié de l'activation de la voie mTOR par la leucine, l'insuline et l'insulin like growth factor-1.

L'activation d'un récepteur tyrosine kinase par l'insuline ou l'IGF1 entraîne la phosphorylation tyrosine du substrat du récepteur (ici substrat du récepteur à l'insuline IRS-1/2). S'en suit l'activation de PI3K qui va recruter Akt, permettant ainsi sa phosphorylation. Akt peut alors activer mTOR, soit après phosphorylation directe, soit par l'inactivation de TSC2 (Tuberous sclerosis complex-2). Le complexe mTOR pourra alors entraîner la phosphorylation de la kinase S6, de eEF2 mais aussi de 4EBP1 qui libèrera et activera ainsi eIF4E. La leucine entraîne, elle, l'activation du complexe mTOR indépendamment de Akt.

4EBP1: Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 ; Akt : Protéine kinase B; DEPTOR: DEP domain-containing mTOR-interacting protein; eEF2: Eukaryotic elongation factor 2; eIF4E: Eukaryotic translation initiation factor 4E; IGF1 : Insulin growth factor 1; IRS1/2: Insulin receptor substrate1/2; mTOR : Mammalian target of rapamycin; MLST8 : TOR-associated protein, LST8 homolog; PI3K : Phosphatidyl-Inositol-3-kinase; PRAS40: proline-rich Akt substrate (40kDa); Raptor : Regulatory-associated protein of mTOR; SLC1A5 : solute carrier family 1 (neutral amino acid transporter), member 5.

3. EFFETS DU VIEILLISSEMENT SUR LE METABOLISME PROTEIQUE MUSCULAIRE

Les protéines corporelles sont constamment renouvelées grâce à un équilibre entre leur synthèse et leur dégradation, à des rythmes très différents en fonction des tissus. Au niveau musculaire, ce renouvellement correspond à environ 4g de protéines par kg de poids corporel et par jour, ce qui représente environ 20% du renouvellement protéique total *(Mitch and Goldberg, 1996)*. Le métabolisme protéique musculaire est très dépendant de l'état nutritionnel, alternant les phases d'anabolisme en période post prandiale, et de catabolisme en période de jeûne. L'anabolisme, ou accrétion protéique est dû à une stimulation de la synthèse et une inhibition de la protéolyse, et inversement pour le catabolisme, correspondant à une perte protéique. Si, chez l'adulte sain, le métabolisme protéique est finement régulé, avec un équilibre entre protéosynthèse et protéolyse permettant le maintien de la masse musculaire sur une journée, chez les personnes âgées, il est modifié en faveur du catabolisme, menant à terme au développement de la sarcopénie.

3.1. Métabolisme protéique – Données générales

3.1.1. Protéosynthèse

La formation de chaînes polypeptidiques à partir des acides aminés est divisée en deux grandes étapes : la transcription et la traduction. Elles sont régulées par différentes voies de signalisation dont la principale est la voie Akt/mammalian Target Of Rapamycin (mTOR). Cette voie peut notamment être activée par l'insuline et l'insulin like growth factor-1 (IGF-1), qui, en se fixant sur le récepteur à l'insuline, entraînent l'activation de la PhosphatidylInositol-3-kinase (PI3-K), elle-même responsable de la phosphorylation de Akt puis de mTOR *(Kimball et al., 2002; Rommel et al., 2001)*. La voie mTOR peut également être activée par les acides aminés, principalement la leucine, indépendamment de Akt *(Foster and Fingar, 2010)* (**Figure 7**). Le contrôle de la traduction des protéines par la voie mTOR s'effectue principalement au moment de l'initiation et de l'élongation. L'initiation, c'est-à-dire l'association des deux sous-unités ribosomales et de l'aminoacyl-ARNt précurseur, est régulée *via* la kinase p70S6K et le facteur d'initiation eIF4E dont l'association à 4E-BP1 dépend de son état de phosphorylation. L'élongation, étape de lecture progressive de l'ARNm et d'assemblage des aminoacyl-ARNt correspondants et de formation des liaisons peptidiques, est, elle, sous le contrôle du facteur d'élongation eEF2 *(Wang and Proud, 2006)*.

3.1.2. Protéolyse

La protéolyse correspond à la dégradation des protéines en acides aminés. Les acides aminés libérés sont en majorité recyclés vers la synthèse de nouvelles

protéines, mais ils peuvent également, comme les acides aminés alimentaires, être oxydés pour produire de l'énergie ou utilisés en tant que précurseurs de molécules bioactives, comme l'arginine, précurseur du NO. La protéolyse est inhibée suite à une prise alimentaire, principalement *via* une augmentation d'insulinémie postprandiale. Au niveau musculaire, la protéolyse est assurée par quatre processus complémentaires: le système ubiquitine protéasome dépendant (UPS), la voie calcium dépendante, la voie lysosomale et la voie des caspases.

- Le protéasome est constitué de différentes sous-unités, dont le protéasome 20S, qui, associé à des complexes régulateurs, forme le protéasome 26S. L'action du protéasome 26S est précédée par un marquage de la protéine à dégrader par l'ubiquitine, peptide de 76 acides aminés à la structure très conservée (*Hochstrasser, 1995*). Cette voie est dépendante de l'ATP et des enzymes « E » (E1, E2 et E3) nécessaires à l'ubiquitination. Le système UPS assure la dégradation des protéines myofibrillaires, dont celle des protéines contractiles (actine et myosine) et représente la principale voie de protéolyse au niveau musculaire (environ 80% de la protéolyse musculaire). Il est cependant dépendant des autres voies de dégradation puisqu'il ne peut pas dégrader les myofibrilles intactes.

- La voie des calpaïnes-calpastatines est dépendante du calcium. La dégradation des protéines résulte de l'équilibre entre les calpaïnes qui sont des endo-peptidases et leurs inhibiteurs, les calpastatines. Contrairement au système UPS et à la voie lysosomale, les calpaïnes ne dégradent pas les protéines en acides aminés. Elles sont pourtant impliquées dans l'initiation de la protéolyse des protéines myofibrillaires en effectuant une dégradation partielle qui permet leur dégradation par le protéasome. En revanche, elles ne sont pas impliquées dans la dégradation des protéines sarcoplasmiques *(Goll et al., 2003)*.

- La voie lysosomale fait référence à la dégradation des protéines sous l'action des cathepsines après leur internalisation par endocytose au sein des lysosomes. Cette voie englobe les processus d'autophagie et d'hétérophagie *(Repnik et al., 2012)*. Les cellules du muscle squelettique contiennent relativement peu de lysosomes et la voie lysosomale est donc peu impliquée dans la dégradation des protéines myofibrillaires, assurant préférentiellement la dégradation des protéines membranaires ou extracellulaires *(Lowell et al., 1986)*.

- La voie des caspases est principalement responsable de la mort cellulaire programmée (apoptose) et participerait à la protéolyse plutôt dans des situations de fonte musculaire. Cependant, elle pourrait également participer à la dégradation normale des protéines myofibrillaires en libérant le complexe actine-myosine, le rendant ainsi accessible au système UPS *(Du et al., 2004)*.

Chez l'adulte sain, ces différents sytèmes de protéolyses sont bien régulés et s'équilibrent avec la synthèse protéique. Cependant, au cours du vieillissement, ces mécanismes vont subir des modifications.

3.2. Altération du renouvellement protéique au cours du vieillissement

Chez l'homme, une altération de la synthèse protéique musculaire au cours du vieillissement a été décrite par certains auteurs à l'état post-absorptif *(Balagopal et al., 1997; Rooyackers et al., 1996; Welle et al., 1993)*. Cependant, ces observations sont controversées et ont été contredites par certains auteurs à la fois chez l'homme *(Volpi et al., 2001)* et chez le rat *(Mosoni et al., 1993a, 1993b)*.

En ce qui concerne la protéolyse, l'activité des enzymes du protéasome serait diminuée chez les rats âgés *(Combaret et al., 2005)*. L'activité des calpaïnes serait, elle, plus élevée chez des rats âgés que chez des rats adultes, cependant, dans ces travaux, l'état nutritionnel des animaux n'est pas précisé *(Dargelos et al., 2007)*. De plus, des marqueurs de l'apoptose ont également été retrouvés à des niveaux plus élevés chez des sujets âgés que chez des sujets jeunes *(Giresi et al., 2005)*. Ces données, ajoutées au fait que les fibres de types II, qui sont les plus touchées au cours du vieillissement, sont particulièrement sensibles à l'apoptose *(Solomon and Bouloux, 2006)* suggèrent un rôle de l'apoptose dans la sarcopénie *(Leeuwenburgh, 2003)*. Cependant, si l'on s'intéresse à la vitesse de dégradation des protéines de façon globale, Wilkes et ses collaborateurs ont montré qu'à l'état basal, elle était similaire chez des sujets âgés et des sujets jeunes *(Wilkes et al., 2009)*.

Le métabolisme protéique musculaire basal semble donc peu modifié et la perte de masse musculaire observée au cours du vieillissement serait plutôt expliquée par une altération de la réponse aux stimuli anaboliques.

3.2.1. Effet du repas

Chez l'adulte sain, le repas entraîne une stimulation de la synthèse protéique musculaire et une inhibition de la protéolyse, engendrant une phase d'anabolisme. Or, cet effet anabolique du repas semble altéré au cours du vieillissement. En effet, d'une part, la synthèse protéique musculaire n'est plus stimulée par le repas chez les

rats âgés *(Mosoni et al., 1995)*. Cette altération de l'effet du repas sur la synthèse protéique musculaire chez l'âgé a également été observée chez l'homme *(Volpi et al., 2000; Welle et al., 1994)*. D'autre part, la protéolyse pourrait, elle, aussi devenir moins sensible à l'effet du repas. Ainsi, l'activité du protéasome ne serait plus inhibée en période postprandiale, comme cela a été montré chez des rats âgés *(Capel et al., 2009; Combaret et al., 2005)*.

L'effet anabolique du repas est dû à l'apport d'acides aminés et à l'augmentation de l'insulinémie. L'effet de l'âge sur la capacité de ces deux facteurs à stimuler l'anabolisme musculaire a donc été étudié.

3.2.2. Effet des acides aminés

Chez le sujet âgé, l'apport d'un bolus limité d'acides aminés engendre une accrétion protéique musculaire plus faible que chez l'adulte *(Katsanos et al., 2005)*. Le rôle de l'inhibition de la protéolyse dans ce défaut d'anabolisme n'est pas clairement défini puisque l'ingestion d'acides aminés inhiberait la protéolyse de façon similaire chez des sujets âgés et des adultes *(Volpi et al., 1999)*. En revanche, il a été clairement montré que la synthèse protéique est moins stimulée en réponse aux acides aminés, et en particulier à la leucine, chez le rat âgé que chez le rat adulte *(Dardevet et al., 2000)*. En plus de son rôle de substrat, au même titre que les autres acides aminés, la leucine est également capable de stimuler la synthèse protéique *via* l'activation de la voie mTOR. Or, chez le sujet âgé, il semble que cette voie soit moins stimulée en réponse aux acides aminés *(Guillet et al., 2004a)*.

Malgré cette baisse de sensibilité, les acides aminés sont toujours capables de stimuler l'anabolisme musculaire, mais les concentrations nécessaires sont supérieures à celles observées classiquement à l'état postprandial *(Mosoni et al., 1993a; Paddon-Jones et al., 2004; Volpi et al., 1999)*. C'est la notion de « seuil anabolique », qui serait plus élevé chez l'âgé que chez l'adulte *(Dardevet et al., 2012)*.

La quantité d'acides aminés disponible pour la synthèse étant dépendante des apports protéiques alimentaires, ces données pourraient inciter à recommander des apports protéiques plus élevés chez la personne âgée. Cependant, les besoins protéiques sont calculés sur la base des besoins minimaux à partir des mesures de bilans azotés. Ils sont estimés à 0,6 g/kg/jour chez les adultes, ce qui a conduit à des apports recommandés de 0,8 g /kg/ jour *(Rand et al., 2003)*. Les mesures de bilan azoté ne mettent pas en évidence de franche augmentation des besoins avec l'âge et dans de nombreux pays les apports recommandés pour les personnes âgées sont les mêmes que pour les adultes. En France, néanmoins, ils ont été fixés à 1 g/kg/jour, essentiellement pour prendre en compte la très grande variabilité qui existe entre les

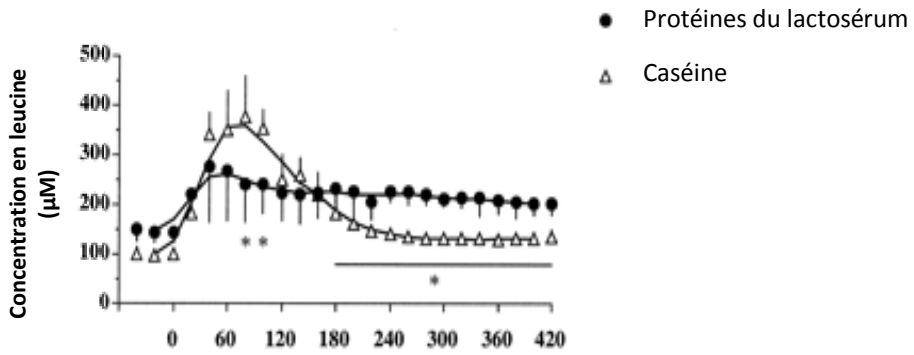


Figure 8 : Concentration plasmatique en leucine après ingestion de protéines de lactosérum ou de caséine (*Boirie, 1997*).

personnes âgées. Cependant, « The Society for Sarcopenia » considère qu'un apport de 1,5g/kg/jour serait préférable pour ralentir la sarcopénie *(Morley et al., 2010)*. En outre, environ 1/3 des personnes âgées ne respectent déjà pas ces recommandations de 0,8g/kg/jour *(Calvani et al., 2013)* et se trouvent donc dans une situation qui favorise l'apparition de la sarcopénie.

Toutefois, l'important pour atteindre le seuil anabolique étant d'augmenter l'aminoacidémie postprandiale, la meilleure stratégie serait peut-être, non pas d'augmenter les apports protéiques quotidiens, mais plutôt de les concentrer sur une même prise, c'est le concept du « pulse-feeding ». Des travaux d'Arnal et ses collègues ont montré que la consommation de 80% de l'apport protéique journalier sur un seul repas (à midi) améliorait la balance azotée chez des femmes âgées *(Arnal et al., 1999)*. Chez le rat âgé, ils ont pu établir que le pulse feeding permettait d'obtenir une stimulation de la synthèse protéique musculaire par le repas et augmentait la synthèse protéique post prandiale hépatique *(Arnal et al., 2002)*, sans pour autant que cela se traduise par un gain de masse musculaire. Cependant, le bénéfice du pulse feeding sur la masse maigre a depuis été mis en évidence chez des personnes âgées dénutries *(Bouillanne et al., 2013)*. De plus, cet effet bénéfique pourrait durer dans le temps puisqu'aucune adaptation métabolique ne semble se mettre en place. En effet, l'augmentation de la disponibilité en acides aminés post prandiale persiste après 6 semaines de pulse feeding *(Bouillanne et al., 2014)*.

L'aminoacidémie postprandiale est également dépendante de la source de protéines, et notamment de la vitesse de digestion de ces protéines. Les protéines du lactosérum ont été particulièrement étudiées du fait de leur digestion rapide qui va entraîner une augmentation importante et courte de l'aminoacidémie, comparativement à la caséine dont la digestion est plus lente et entraîne une augmentation modérée de l'aminoacidémie, mais qui s'étend sur une plus longue durée (**Figure 8**) *(Boirie et al., 1997a)*. De plus, les protéines du lactosérum sont riches en leucine. De ce fait, chez des personnes âgées, les protéines du lactosérum entraînent une meilleure rétention protéique que la caséine *(Dangin et al., 2003)* et stimulent plus efficacement la synthèse protéique postprandiale *(Pennings et al., 2011)*.

En outre, une augmentation de tous les acides aminés ne serait pas nécessaire, puisque la supplémentation en leucine d'un repas normo-protéique serait suffisante pour stimuler la synthèse protéique chez le rat âgé *(Rieu et al., 2003)* et chez le sujet âgé *(Katsanos et al., 2006; Rieu et al., 2006)*.

L'insuline aurait elle aussi un rôle important dans la dérégulation du métabolisme protéique musculaire, même si celui-ci ne peut être dissocié de celui des acides aminés, sans lesquels la protéosynthèse ne peut de toute façon avoir lieu.

3.2.3. Effet de l'insuline

L'insuline a un rôle primordial dans le maintien de l'homéostasie protéique musculaire puisqu'elle est à la fois capable d'inhiber la protéolyse et de stimuler la protéosynthèse *(Newman et al., 1994)*. L'apparition d'une résistance à l'insuline au cours du vieillissement, pourrait donc modifier la régulation de ces deux mécanismes et très largement contribuer au déséquilibre du métabolisme protéique menant à la sarcopénie. De nombreuses études ont d'ailleurs établi une corrélation négative entre résistance à l'insuline et masse musculaire chez des sujets âgés *(Alemán-Mateo et al., 2014; Lee et al., 2011b, 2015; Moon, 2014)*. De plus, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline à l'aide d'un traitement permet d'atténuer la perte de masse musculaire chez des sujets diabétiques *(Lee et al., 2011a)*.

L'action principale de l'insuline sur le métabolisme protéique est l'inhibition de la protéolyse *(Fukagawa et al., 1985)*. Certains auteurs observent une altération de cette fonction au cours du vieillissement, notamment chez des sujets âgés perfusés avec de l'insuline (*Y. Boirie et al., 2001; Guillet et al., 2004b; Wilkes et al., 2009)*. Cependant, d'autres auteurs montrent que l'inhibition de la protéolyse en réponse à l'insuline est préservée au cours du vieillissement, que ce soit chez l'homme *(Fukagawa et al., 1989)* ou chez le rat *(Capel et al., 2009)* et que la réduction de masse musculaire observée chez les sujets insulino-résistants serait plutôt due à une altération de la synthèse. C'est du moins ce que suggèrent les travaux de O'Neill et ses collaborateurs menés chez des souris KO pour le récepteur à l'insuline chez lesquelles l'insuline n'induisait plus de phosphorylation de S6K1, mais dont l'activité du protéasome n'était pas modifiée (pas d'effet sur Atrogin1 et Muscle ring-finger protein 1 (MuRF1), deux ubiquitine ligases) *(O'Neill et al., 2010)*. Ce défaut de phosphorylation de S6K1 induit par l'insuline pourrait participer à la perte de masse musculaire due au vieillissement, comme l'ont rapporté des travaux chez le rat âgé *(Dardevet et al., 1994)* et le sujet âgé *(Guillet et al., 2004a)* (bien que dans cette dernière étude les niveaux de mTOR et de 4E-BP1 phosphorylés chez les sujets âgés étaient similaires à ceux observés chez les sujets jeunes).

Cependant, l'effet de l'insuline sur la traduction des protéines serait surtout un effet permissif des acides aminés et il semblerait que l'action de l'insuline sur la synthèse protéique soit surtout dépendante de son effet vaso-dilatateur *(Timmerman et al., 2010a)*. En effet, l'augmentation de l'insulinémie stimule la NO synthase endothéliale (eNOS), entrainant une augmentation de la production de NO, un

important vaso-dilatateur. L'élévation du débit sanguin qui en résulte augmente la disponibilité des substrats et particulièrement des acides aminés dans le muscle, stimulant ainsi la synthèse protéique musculaire *(Ding et al., 2000; Steinberg et al., 1994)*. Or, chez le sujet âgé, l'insuline ne parvient pas à stimuler la vasodilatation *(Rasmussen et al., 2006)*, à moins d'augmenter les concentrations d'insuline à des niveaux pratiquement deux fois plus élevés que ceux obtenus classiquement à l'état postprandial, restaurant ainsi la stimulation de la synthèse protéique *(Fujita et al., 2009)*. Cette stimulation peut également être restaurée par l'administration d'un vaso-dilatateur *(Timmerman et al., 2010b)*.

S'il est donc bien montré que la résistance à l'insuline participe à la perte de masse musculaire au cours du vieillissement, les mécanismes mis en jeu sont complexes et il semblerait que l'altération de l'action anabolisante de l'insuline sur la synthèse protéique touche à la fois la protéolyse, la voie mTOR et la vasodilatation, qui de plus peuvent interagir entre elles.

Au cours du vieillissement, le métabolisme protéique musculaire est donc modifié, en particulier à l'état postprandial, avec une diminution à la fois de la stimulation de la synthèse protéique et de de l'inhibition de la protéolyse, induisant une situation de catabolisme menant à terme à une perte de masse musculaire. Différents facteurs peuvent participer à ces altérations en modulant l'effet des acides aminés et de l'insuline sur le métabolisme protéique, l'un d'entre eux pourrait être le stress oxydant.

3.3. Stress oxydant et métabolisme protéique musculaire

3.3.1. Données générales

Le stress oxydant est un phénomène important dans le processus de vieillissement. En effet, la théorie des radicaux libres, décrite pour la première fois en 1956 par Harman, place le stress oxydant au centre des évènements physiologiques qui ont lieu au cours du vieillissement *(Harman, 1956)*. Les radicaux libres sont des espèces chimiques caractérisées par la présence d'au moins un électron non apparié sur leur orbitale périphérique, ce qui leur confère une haute réactivité. Les espèces réactives de l'oxygène (reactive oxygen species - ROS), font référence aux radicaux libres dérivés de l'oxygène comme l'anion superoxyde ($O^{\bullet -}_2$) ou le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), mais aussi à des espèces réactives non radicalaires hautement réactives notamment le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) *(Temple et al., 2005)*. Les radicaux dérivés de l'oxygène sont majoritaires, mais il existe également des radicaux dérivés du monoxyde d'azote (reactive nitrogen species – RNS) produit par les NO synthases au cours de la synthèse de la citrulline à partir de l'arginine. Les ROS sont principalement issus de la chaîne respiratoire mitochondriale, mais peuvent

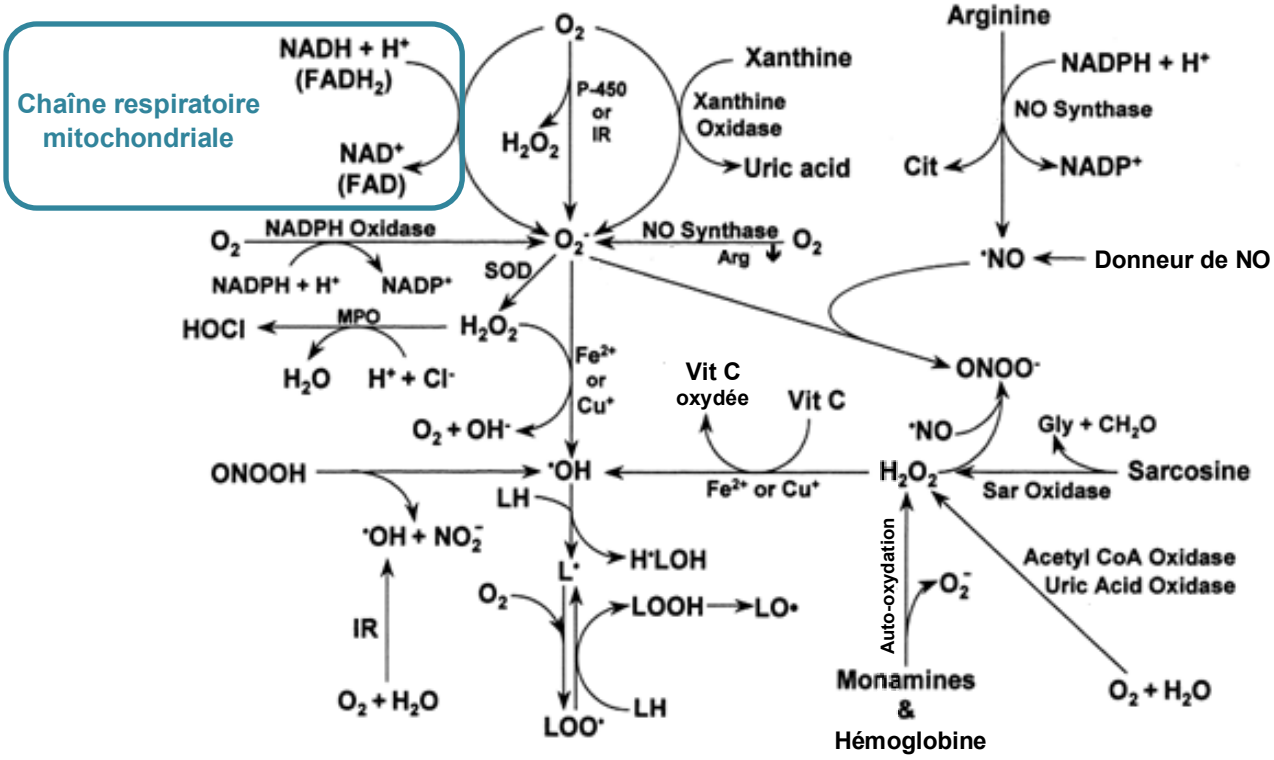


Figure 9 : Production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (adapté de *Fang, 2002*).

Arg : arginine ; Cit : citrulline; FAD : flavine adénine dinucléotide (oxydé); FADH2, flavine adénine dinucléotide (réduit); Gly, glycine; HOCl, acide hypochlorique; H•LOH, radical hydroxy lipidique; IR : rayonnement ionisant; L• : radical lipidique; LH : lipide (acide gras insaturé); LO• : radical alcoxyl ; LOO• : radical peroxyl lipidique ; LOOH : hydroperoxyde lipidique; MPO : myéloperoxydase; NAD : nicotinamide adénine dinucléotide (oxydé); NADH : nicotinamide adénine dinucléotide (réduit); NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (oxydé); NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (réduit); •NO : monoxyde d'azote; O_2^- : anion superoxyde; •OH : radical hydroxyl; $ONOO^-$: peroxynitrite; P-450 : cytochrome P-450; Sar : Sarcosine; SOD : superoxyde dismutase; Vit C : vitamine C; Vit E : vitamine E (α-tocophérol).

également être produits suite à des réactions enzymatiques impliquant les NAD(P)H oxydases, les xanthine oxydases, le cytochrome P450 (au niveau du réticulum endoplasmique) ou encore des enzymes peroxysomales entraînant la production d'H_2O_2 *(Fang et al., 2002)* (**Figure 9**). Dans des conditions physiologiques normales, les ROS sont indispensables à l'homéostasie de la cellule et participent aux mécanismes de défense, à la régulation du cycle cellulaire, ou encore à l'expression et la régulation de certains gènes *(Dröge, 2002)*. Cependant l'âge s'accompagne d'une augmentation de leur production en partie due à l'altération de la fonction mitochondriale, et à une stimulation excessive des NAD(P)H oxydases *(Payne and Chinnery, 2015; Valko et al., 2007)*. Les défenses anti-oxydantes ne sont alors plus suffisantes pour les prendre en charge, entraînant un déséquilibre en faveur des espèces pro-oxydantes, c'est le stress oxydant.

Ce stress va être délétère pour la cellule puisque qu'il engendre une oxydation des protéines, de l'ADN et des lipides. La peroxydation lipidique correspond à la réaction en chaîne durant laquelle les lipides sont oxydés par les radicaux libres, le plus souvent des radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$) ou peroxyles ($ROO^{\bullet -}$), perturbant alors les membranes plasmiques ou bien formant des produits de peroxydation lipidique toxiques pour la cellule comme le malondialdéhyde (MDA) *(Ayala et al., 2014)*. L'oxydation des protéines peut, elle, résulter d'une action directe des ROS ou d'une réaction avec des produits de glycation, de glycoxydation ou de peroxydation lipidique. Les acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine) sont particulièrement sensibles à l'oxydation, tout comme la cystéine et la méthionine qui donnent des groupements sulfoxides. Cette réaction est réversible, sous l'action d'une sulfoxide réductase et ces acides aminés peuvent donc aider à limiter le stress oxydant. Les ROS peuvent également réagir avec la lysine et l'arginine pour former des groupements carbonyles *(Höhn et al., 2013)*. Au niveau de l'ADN, les ROS peuvent oxyder les bases des deoxyribonucléotides (plus fréquemment les bases puriques) ou les désoxyriboses, entraînant un changement de structure des bases ou une rupture de l'ADN simple ou double brin *(Cooke et al., 2003)*. Il est donc indispensable de pouvoir lutter contre cette production d'espèces pro-oxydantes et pour cela, l'organisme dispose de divers moyens, et notamment de plusieurs enzymes anti-oxydantes dont les principales que sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), seront brièvement présentées ici.

3.3.2. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Superoxyde dismutase

La SOD est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène selon la réaction:

$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$.

Chez l'homme il existe 3 isoformes de la SOD :

- La SOD1 cytoplasmique et nucléaire associée au cuivre et zinc, ou Cu/ZnSOD
- La SOD2 mitochondriale associée au manganèse, ou MnSOD
- La SOD3 extracellulaire également associée au cuivre et au zinc

La MnSOD mitochondriale est particulièrement importante dans la prise en charge des ROS puisqu'elle permet de dismuter directement l'anion superoxyde issu de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Catalase

Le peroxyde d'hydrogène, hautement réactif, doit à son tour être éliminé, et la catalase peut catalyser sa dismutation en eau et oxygène selon la réaction :

$2H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$

La catalase est une hémoprotéine, localisée dans le cytoplasme et les peroxysomes. Elle est particulièrement efficace en cas de concentrations élevées d'H_2O_2, alors qu'en cas de faibles concentrations c'est plutôt la GPx qui va intervenir *(Comhair and Erzurum, 2002)*.

Glutathion peroxydase

En effet, le peroxyde d'hydrogène peut également être réduit par la glutathion peroxydase en présence de glutathion réduit (GSH), pour donner une molécule d'eau. Le glutathion oxydé (GSSG) produit est ensuite réduit par la glutathion réductase. Contrairement à la catalase, la GPx prend aussi en charge les lipides ayant subis une peroxydation *(Comhair and Erzurum, 2002)*. La GPx est une sélénoprotéine dont il existe plusieurs isoformes chez l'homme, plus ou moins présentes selon les tissus. Par exemple la GPx1 cytosolique et mitochondriale est particulièrement présente au niveau des reins, des érythrocytes et du foie *(Mates et al., 1999)*.

Le GSH possède un rôle central dans la régulation de l'équilibre redox puisqu'il est nécessaire au fonctionnement de la GPx et de la glutathion transférase. Par ailleurs, il est également capable de neutraliser directement les radicaux libres

(Pastore et al., 2003), ce qui fait de lui un puissant antioxydant non enzymatique. De plus, le GSH participe à la régénération d'autres antioxydants tels que la vitamine C et la vitamine E sous leur forme active *(Valko et al., 2007)*. Le GSH intervient donc à différents niveaux dans la régulation du stress oxydant, c'est pourquoi le rapport GSH/GSSG est très utilisé en tant que marqueur du statut redox de la cellule.

3.3.3. Stress oxydant musculaire et sarcopénie

Le stress oxydant est considéré comme l'un des responsables du vieillissement, il n'est donc pas surprenant qu'il ait été associé à la sarcopénie, d'autant plus que le muscle étant un grand consommateur d'oxygène il produit une quantité importante de ROS. Cette production musculaire augmente avec l'âge, comme cela a été montré pour la production d'H_2O_2 au niveau des mitochondries, principales sources de production des ROS *(Capel et al., 2005, 2004)*. Afin de maintenir l'équilibre redox, les défenses anti-oxydantes du muscle devraient donc être accrues. Or, il semblerait que les capacités anti-oxydantes du muscle squelettique diminuent avec l'âge, ceci ayant été montré chez le rat *(Ji et al., 1990; Leeuwenburgh et al., 1994)*, comme chez l'homme *(Pansarasa et al., 1999)* augmentant les dommages oxydatifs, tels que la peroxydation lipidique *(Marzani et al., 2005)*. Par ailleurs, ces dommages oxydatifs semblent corrélés à la force musculaire. En effet, des travaux de Semba et son équipe ont montré que la concentration de protéines sériques carbonylées était inversement corrélée à la vitesse de marche et à la force développée au grip test *(Howard et al., 2007; Semba et al., 2007)*. Les dommages oxydatif au niveau de l'ADN *(Muzembo et al., 2014)* et des lipides *(Cesari M et al., 2005)* sont également corrélés à la force musculaire et à la mobilité. Plusieurs mécanismes ont été identifiés pour expliquer l'effet du stress oxydant sur la sarcopénie.

3.3.4. Mécanismes d'action des ROS sur le métabolisme protéique

D'une part, les ROS exercent leurs effets délétères directement à travers l'altération des lipides, des protéines et de l'ADN. Ces altérations entraînent une dysfonction mitochondriale qui va engendrer un relargage de certaines protéines capables d'activer l'apoptose, soit de manière directe, c'est le cas de l'endonucléase G et du facteur d'induction de l'apoptose (AIF) *(Marzetti et al., 2008)*, ou bien *via* la voie des caspases dans le cas du cytochrome c *(Chabi et al., 2008)*. Ces dommages moléculaires génèrent également une modification de la perméabilité et de la fonction Ca^{2+}-ATPase du réticulum sarcoplasmique ainsi qu'une ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale *(Batandier et al., 2004; Favero et al., 1995; Xu et al., 1997)*. L'augmentation de Ca^{2+} qui en résulte va à la fois inhiber la

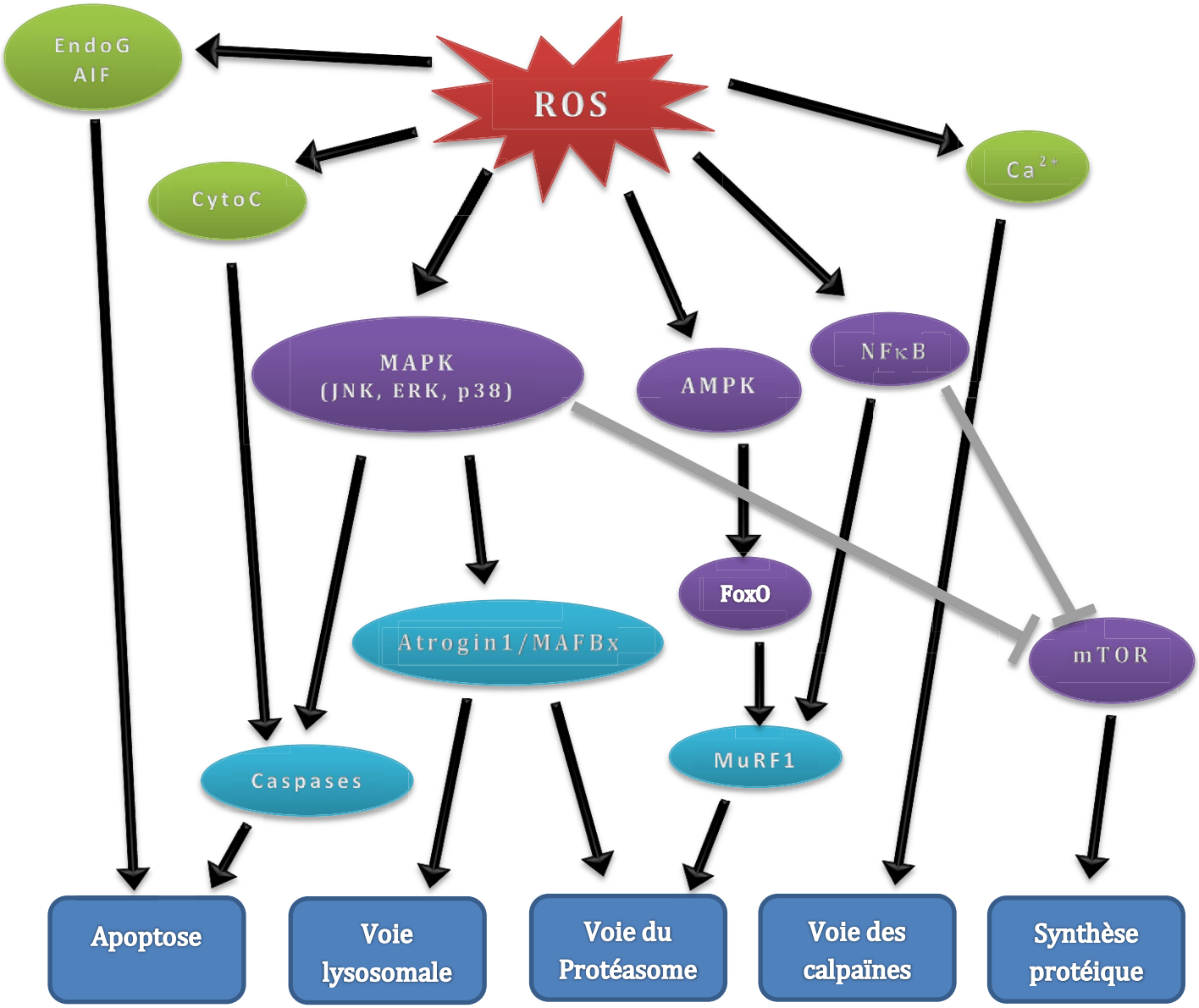


Figure 10 : Régulation du métabolisme protéique par les espèces réactives de l'oxygène (ROS).
AIF : facteur d'induction de l'apoptose ; AMPK : adénosine mono-phosphate kinase; Cyto C : cytochrome C ; EndoG : endonuclease G ; ERK: extracellular signal regulated kinase; FoxO: forkhead box; JNK: c-Jun NH(2)-terminal kinase; MAFbx: V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B ; MAPK : mitogen-activated potein kinases ; mTOR : mammalian target of rapamycin MuRF1 : muscle ring finger 1 ; NFκB : nuclear factor κ B.

contraction musculaire (et donc affecter la fonctionnalité musculaire), mais aussi augmenter la protéolyse en activant la voie des calpaïnes *(Gissel, 2006; Smith and Reid, 2006)*. D'autre part, les ROS sont capables de moduler plusieurs voies de signalisation qui participent à la régulation de la protéosynthèse et de la protéolyse, faisant basculer le métabolisme protéique vers le catabolisme. Il a par exemple été montré dans des cellules musculaires que l'H_2O_2 était capable d'activer la voie des MAPK (mitogen-activated protein kinases), incluant p38, ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2) et JNK (c-Jun NH(2)-terminal kinase) *(Li et al., 2005)*. Or, l'activation de la kinase p38 engendre, entre autre, une augmentation de l'expression de l'ubiquitine ligase atrogin1/MAFbx (V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B), impliquée dans l'atrophie musculaire *(Li et al., 2005)*. La kinase JNK serait, elle, capable d'inhiber mTOR *(Qi et al., 2013)* et donc la synthèse protéique mais serait également impliquée dans l'apoptose observée dans des cellules musculaires de souris âgées *(Braga et al., 2008)*, tout comme ERK qui induit l'apoptose et l'autophagie *(Cagnol and Chambard, 2010)*. Les ROS activent également le facteur de transcription FoxO (Forkhead box), important régulateur de la dégradation des protéines *via* la voie du protéasome à travers l'activation des ubiquitine ligases atrogin1/MAFbx et MurF1 mais également *via* la voie lysosomale en régulant l'expression de la cathepsine L *(Kamei et al., 2004)*. Pour finir, la voie du facteur nucléaire kappa B (NF-κB), activée par la présence de ROS pourrait elle aussi favoriser la perte de masse musculaire. En effet, ce facteur de transcription a été retrouvé à une concentration quatre fois plus élevée dans des muscles de sujets âgés par rapport à des sujets jeunes et était associé à une altération de la voie mTOR *(Cuthbertson et al., 2004*). Il favorise également la protéolyse en partie *via* la régulation de MuRF1 *(Cai et al., 2004)* (**Figure 10**).

L'augmentation du stress oxydant observée dans le muscle au cours du vieillissement semble donc corrélée à l'intensité de la sarcopénie. Cette relation pourrait s'expliquer par l'activation de différentes voies de signalisation par les ROS, induisant une stimulation de la protéolyse et une inhibition de la synthèse protéique qui contribuent à atténuer la sensibilité du métabolisme protéique aux effets anaboliques de l'insuline et des acides aminés.

Cependant, le lien entre sarcopénie et stress oxydant reste controversé puisque certains auteurs ne relèvent pas d'effets de l'âge sur les capacités anti-oxydantes musculaires *(Kent-Braun and Ng, 2000; Rasmussen et al., 2003)*. D'autres facteurs pourraient perturber le métabolisme protéique, comme la glycation des protéines, conduisant elle aussi à des modifications post-traductionnelles.

3.4. Glycation des protéines et métabolisme protéique musculaire

3.4.1. Données générales

La glycation des protéines, couramment appelée réaction de Maillard, correspond à une liaison non enzymatique entre une protéine et un sucre réducteur. La première étape de cette réaction est la formation d'une base de Schiff par fixation non-enzymatique du sucre réducteur sur le résidu amine d'une protéine. Cette base instable subit rapidement un réarrangement pour donner un produit d'Amadori lorsqu'il est issu du glucose, ou de Heyns lorsqu'il est issu du fructose. Ces produits peuvent alors subir diverses réactions (oxydation, clivage, déshydratation,...) menant à la formation de produits terminaux de la glycation (Advanced Glycation End products – AGEs) dont les conséquences délétères sont nombreuses.

La glycation touche principalement les protéines ayant une longue durée de vie, telles que les protéines de la matrice extracellulaire, et entraîne une modification de leur structure. Ce changement peut perturber leur activité biologique ou modifier leur susceptibilité à être dégradées, soit en les rendant résistantes à la dégradation, ou au contraire en accélérant leur dégradation et en libérant à cette occasion des produits toxiques pour la cellule. Les AGEs peuvent également induire la formation de ponts entre macros molécules, notamment entre les fibres de collagène, ce qui les rend plus rigides et moins solubles *(Hegab et al., 2012)*. De plus, les AGEs peuvent servir de ligands à différents récepteurs capables d'induire diverses voies de signalisations. Les récepteurs les plus étudiés sont les récepteurs de surface cellulaire RAGE (Receptor for AGE), appartenant à la superfamille des immunoglobulines et exprimés dans plusieurs types cellulaires, tels que les cellules endothéliales, les cellules neuronales, les cellules musculaires lisses ou encore les macrophages *(Chavakis et al., 2004)*. L'activation de ces récepteurs par les AGEs induit la production de radicaux libres et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires *(Falcone et al., 2013)*, principalement *via* la voie du facteur de transcription NF-κB et la voie des MAPK ; les ROS étant eux-mêmes capables d'activer ces récepteurs *via* Akt et p38 *(Gelain et al., 2011)*.

3.4.2. AGEs et sarcopénie

La quantité de protéines glyquées au niveau musculaire semble augmentée chez le sujet âgé. Cela a notamment été montré par Haus et ses collaborateurs qui ont rapporté des niveaux de pentosidine (un marqueur de glycation des protéines) quatre fois plus élevés chez des personnes âgées que chez des adultes ; par ailleurs une diminution de la force et de la masse musculaire était notée chez ces personnes âgées *(Haus et al., 2007)*. Une corrélation a même été établie entre AGEs et force

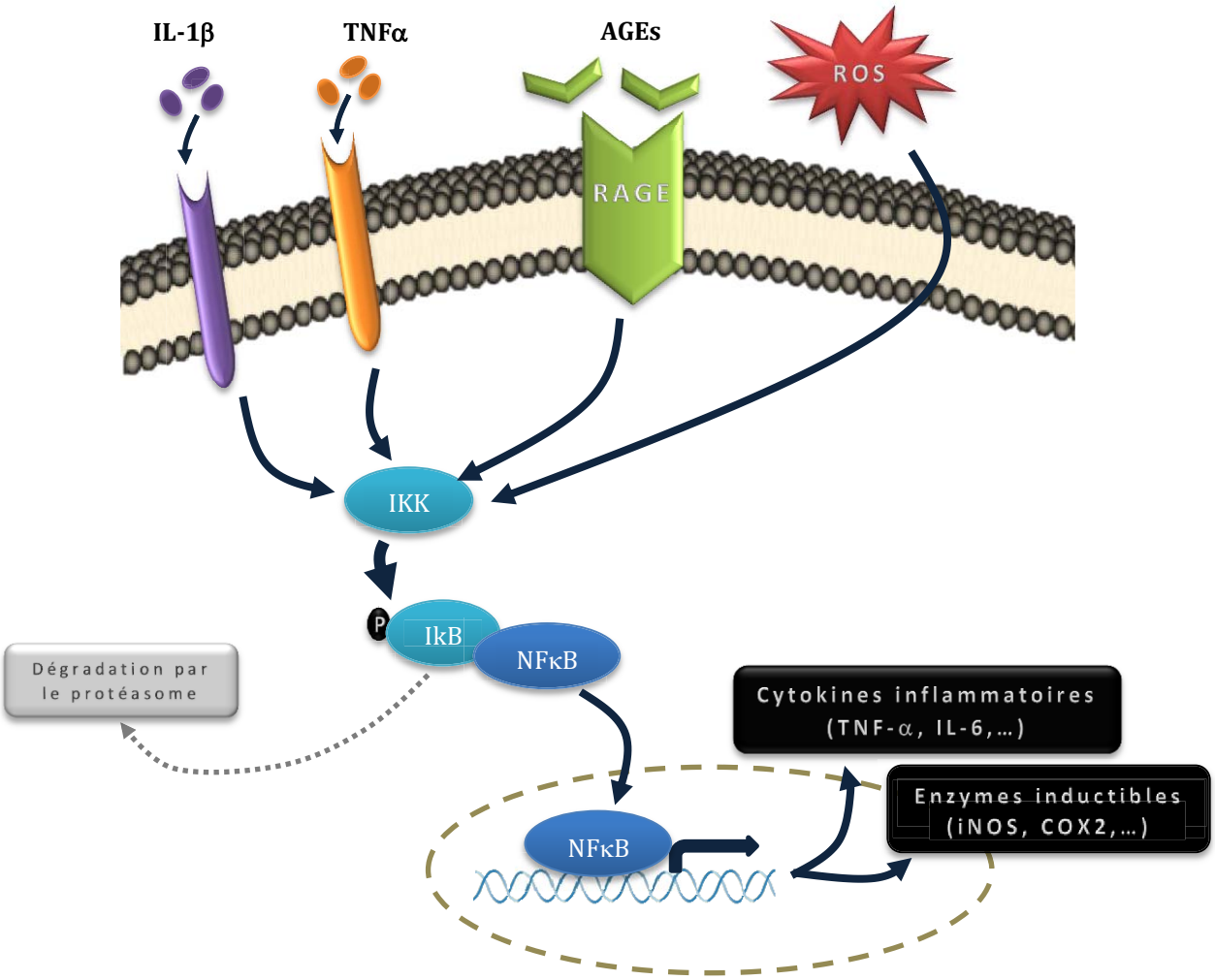


Figure 11 : Activation de la voie NF-κB
L'activation de la kinase IKK par les différents stimuli engendre la phosphorylation d'IκB, qui va alors se détacher de NF-κB et être dégradé par le protéasome. Une fois libéré, NF-κB pénètre dans le noyau où il pourra se fixer sur son élément régulateur kB présent dans la région promotrice de ses différents gènes cibles et ainsi induire leur transcription. AGEs : Advanced glycation end products ; COX2 : Cyclooxygénase 2 ; IκB: Inhibiteur de NF-κB; IKK: IκB kinase; IL-1β: Interleukine-1β; iNOS : NO synthase inductible ; NF-κB : Nuclear factor -κB ROS : espèces réactives de l'oxygène ; TNF-α : Tumor necrosis factor.

musculaire : chez des femmes âgées les concentrations sériques de carboxyméthyl-lysine (CML) les plus élevées ont été associées aux plus faibles résultats aux grip test *(Dalal et al., 2009)*, à une plus faible vitesse de marche *(Semba et al., 2010a)*, mais également à une mobilité réduite *(Sun et al., 2012)* et à un risque plus important de développer des difficultés dans les activités de la vie quotidienne *(Whitson et al., 2014)*.

Que ce soit de manière directe, en modifiant la structure des protéines, ou bien *via* l'induction d'un stress oxydant, les AGEs peuvent augmenter la dégradation des protéines et donc favoriser la perte de masse musculaire au cours du vieillissement, il n'est donc pas surprenant qu'ils aient été associés à la sarcopénie. Ils sont de plus capables d'activer la voie NF-κB, impliquée dans l'inflammation qui participe elle aussi au développement de la sarcopénie.

3.5. Inflammation et métabolisme protéique musculaire

3.5.1. Données générales

L'inflammation est un processus de défense, nécessaire au fonctionnement de l'organisme qui se caractérise par une réaction défensive des tissus, déclenchée en réponse à une infection ou à une agression par des agents physiques ou chimiques. Elle conduit à une production de différents facteurs pro et anti–inflammatoires par les cellules de l'immunité telles que les lymphocytes (notamment les natural killer et les lymphocytes T), les fibroblastes, ou encore les phagocytes dont font partie les macrophages, très présents au niveau du tissu adipeux. La principale voie de signalisation impliquée dans les processus inflammatoires est la voie du facteur de transcription NF-κB régulant l'expression de gènes codant pour de nombreuses cytokines, telles que l'interleukine-1β (IL-1β) ou le facteur de nécrose tumorale alpha (tumor necrosis factor α - TNF-α), et pour certaines enzymes inductibles telles que la NO synthase inductible (iNOS). Dans des conditions physiologiques normales, NF-κB est séquestré sous forme de dimère inactif par son inhibiteur IκB. L'activation de l'IκB kinase (IKK) par des stimuli pro-apoptotiques, des cytokines pro-inflammatoires ou encore par les ROS, entraîne la phosphorylation d'IκB puis sa dégradation par le protéasome, libérant ainsi NF-κB *(Hayden and Ghosh, 2008)* (**Figure 11**). La réponse inflammatoire aigüe est une réaction brève participant à la réparation de tissus lésés ou encore à la dégradation de pathogènes. Cependant, au cours du vieillissement, la dérégulation du système immunitaire et l'augmentation du stress oxydant engendrent une activation continue de la voie NF-κB entraînant l'apparition d'une inflammation chronique à bas bruit *(Chung et al., 2009)*.

3.5.2. Inflammation et sarcopénie

Cette inflammation chronique à bas bruit est délétère pour l'organisme et a notamment été corrélée à la sarcopénie. S'il est bien connu qu'à tous les âges une inflammation aigüe est associée à une fonte musculaire, cette corrélation pourrait également être observée dans le cas de l'inflammation à bas bruit au cours du vieillissement. En effet, Visser et ses collaborateurs ont montré que des concentrations plasmatiques élevées de cytokines pro-inflammatoires interleukine-6 (IL-6) et TNF-α chez des personnes de 70 à 79 ans étaient associées à une masse et une fonction musculaire plus faibles *(Visser et al., 2002)*. La concentration de protéine C réactive (CRP) plasmatique a également été corrélée à une diminution de la force et de la masse musculaire chez les personnes âgées *(Hamer and Molloy, 2009; Schaap et al., 2009, 2006)*. Chez le rat, une injection d'IL-6 à une dose similaire à celle retrouvée dans le cas de l'inflammation à bas bruit entraîne une atrophie musculaire (*Haddad et al., 2005*).

3.5.3. Inflammation et altération du métabolisme protéique

Cet effet de l'inflammation à bas bruit sur la sarcopénie passerait en partie par un déséquilibre du métabolisme protéique musculaire, d'une part en réduisant la protéosynthèse, d'autre part en stimulant la protéolyse. Il a en effet été montré dans une population de rats âgés que cette inflammation était associée à une moindre stimulation de la synthèse protéique post-prandiale *(Balage et al., 2010)*. En outre, cette stimulation peut être restaurée à l'aide d'un traitement anti-inflammatoire (ibuprofène), permettant même de limiter la perte de masse musculaire liée à l'âge *(Rieu et al., 2009)*. Chez l'homme également, l'association entre inflammation et métabolisme protéique a été démontrée, puisque l'augmentation de l'expression de NF-κB chez des hommes âgés comparés à des jeunes s'accompagne d'une baisse de sensibilité et de réponse aux acides aminés de la synthèse protéique musculaire *(Cuthbertson et al., 2004)*. Ce défaut de stimulation de synthèse protéique observé en cas d'inflammation pourrait passer par une altération de la voie mTOR puisque dans une étude de Haddad et ses collaborateurs, l'atrophie musculaire induite par l'injection d'IL-6 était associée à une diminution de la phosphorylation de la S6K *(Haddad et al., 2005)*. Le TNF-α, lui aussi capable d'altérer la synthèse en perturbant la voie mTOR *(Lang et al., 2002)*, peut, de plus, stimuler la protéolyse, notamment *via* l'apoptose *(Li et al., 1998; Li and Reid, 2000)*. Il a d'ailleurs été montré chez des rats âgés que des niveaux élevés de TNF-α au niveau du *vastus lateralis* étaient associés à une stimulation de la Fas-associated death domain et de la caspase 8, impliquées dans l'apoptose *(Phillips and Leeuwenburgh, 2005)*. Il stimule également la voie du protéasome, comme cela a été montré après injection de TNF-α chez le rat *(Llovera et*

al., 1997). Si beaucoup d'études se sont concentrés sur le TNF-α, il semblerait que l'activation de l'expression d'iNOS et la production de NO qui en découle soient également des médiateurs importants de l'implication de la voie NF-κB dans la sarcopénie. En effet, le NO pourrait favoriser la perte de masse musculaire notamment en inhibant mTOR et MyoD (important facteur de transcription myogénique) *(Hall et al., 2011)*.

Si l'inflammation chronique n'est pas présente de façon systématique chez les sujets sarcopéniques, il est clair qu'elle peut agir de diverses manières pour favoriser la perte de masse musculaire au cours du vieillissement.

3.6. Autres facteurs impliqués dans les changements du métabolisme protéique musculaire

3.6.1. Hormones

Outre la perte de sensibilité à l'insuline, de nombreux changements hormonaux apparaissent au cours du vieillissement et pourraient participer à la perte de masse et de force musculaire *(Banks and Morley, 2000)*.

TESTOSTERONE

La testostérone est une des principales hormones anabolisantes, elle stimule la synthèse protéique selon des mécanismes encore mal compris, mais qui semblent impliquer une activation de la voie mTOR *(Basualto-AlarcóN et al., 2013; White et al., 2013)*. La diminution de sa sécrétion au cours de l'âge pourrait être impliquée dans le développement de la sarcopénie *(Bhasin et al., 2001; Harman et al., 2001)*. En effet, une corrélation a été établie entre des faibles taux sériques de testostérone libre et une altération de la mobilité chez des hommes âgés *(Krasnoff et al., 2010)*. Cependant, une supplémentation en testostérone n'apparaît pas comme la solution la plus adaptée pour limiter la sarcopénie. Certes, elle permet d'augmenter la masse maigre, mais elle reste sans effet sur la force et la fonctionnalité musculaire *(Emmelot-Vonk et al., 2008)* et augmente, de plus, le risque de problèmes cardiovasculaires, respiratoires et dermatologiques *(Basaria et al., 2010)*.

HORMONE DE CROISSANCE ET INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR

Les taux sériques d'hormone de croissance (GH) et d'insuline-like growth factor 1 (IGF-1) diminuent également avec l'âge. Or, l'IGF-1 est capable de stimuler la prolifération des myoblastes et la croissance musculaire en activant la voie PI3K/Akt *(Yu et al., 2015)* et participe également à la régulation de MuRF1 et de l'atrogin1 *(Clavel et al., 2006)*. La dérégulation de ces voies qui résulte de la diminution d'IGF-1 favorise donc la perte de masse musculaire au cours du vieillissement. Toutefois,

comme pour la testostérone, une supplémentation en GH conduit à une augmentation de la masse maigre mais entraîne des effets secondaires importants et notamment une insulino-résistance *(Giannoulis et al., 2012)*.

PARATHORMONE ET VITAMINE D

Des taux élevés de parathormone et faibles de vitamine D sont eux aussi associés à une plus forte perte de masse et de force musculaire et à un plus grand risque de fragilité *(Tajar et al., 2013; Visser et al., 2003)*. Le mécanisme d'action de la vitamine D sur le muscle n'est encore que partiellement compris et semble assez complexe, mettant en jeu une régulation génomique et non génomique *(Halfon et al., 2015)*. Plusieurs études se sont penchées uniquement sur la vitamine D et ont montré chez des personnes âgées que des concentrations sériques de vitamine D plus élevées étaient associées à une meilleure fonction musculaire des membres inférieurs *(Bischoff-Ferrari et al., 2004)* et à un moindre déclin des performances physiques *(Wicherts et al., 2007)*. Une corrélation a également été établie entre le récepteur à la vitamine D (VDR), dont l'expression diminue avec l'âge, et la masse et la force musculaire *(Bischoff et al., 2001; Geusens et al., 1997)*. Cependant, l'association entre vitamine D et performances physiques reste très controversée *(Annweiler et al., 2010)*.

GLUCOCORTICOÏDES

L'accumulation des épisodes de stress ou de maladie au cours de la vie entraîne une augmentation du taux de glucocorticoïdes chez les personnes âgées *(Sabatino et al., 1991)*. Or, les glucocorticoïdes, bien connus pour favoriser le catabolisme protéique musculaire *(Hasselgren, 1999)*, auraient un effet d'autant plus important avec l'avancée en âge. Il a été montré qu'un traitement à la dexaméthasone entraînait une perte de masse musculaire plus importante chez des rats âgés que chez des rats adultes, due à une plus forte inhibition de la synthèse protéique *(Dardevet et al., 1995; Savary et al., 1998)*. Les glucocorticoïdes pourraient donc accélérer la sarcopénie en amplifiant l'effet des événements caractérisés par un état catabolique chez les sujets âgés.

3.6.2. Activité physique

Sans surprise, une diminution de l'activité physique est observée chez les personnes âgées *(Sallis, 2000)*. Or, cette diminution apparait comme une des principales causes de développement de la sarcopénie. Durant la phase d'exercice, l'activité de la voie mTOR est tout d'abord réduite, inhibant ainsi la synthèse protéique *(Dreyer et al., 2006)*. Puis, pendant la phase de récupération, la protéosynthèse est augmentée. Cette phase démarrant 2 à 3h après l'exercice et pouvant durer jusqu'à 48h après l'exercice, elle aboutit à un gain global de masse

protéique musculaire *(Phillips et al., 1997)*. La protéolyse est, elle, augmentée durant les premières 24h qui suivent l'exercice, et revient à son niveau de repos dans les 48h *(Pasiakos and Carbone, 2014)*.

Ainsi, chez le sujet âgé, l'exercice, et particulièrement l'exercice de résistance, permet d'améliorer aussi bien la masse *(Peterson et al., 2011)*, que la force musculaire *(Peterson et al., 2010; Silva et al., 2014)*. Cet effet bénéfique ne serait pas uniquement dû à la stimulation de la synthèse protéique conséquente à l'exercice, mais à une amélioration du métabolisme protéique musculaire dans la durée. En effet, la pratique d'un exercice permet de restaurer la stimulation de la synthèse protéique par l'insuline chez le sujet âgé, *via* l'amélioration de la fonction endothéliale et l'activation de la voie mTOR, et ce, le lendemain de la séance d'exercice *(Fujita et al., 2007)*. De plus, l'exercice physique permet de réduire l'inflammation (CRP, IL-6 et TNF-α plasmatiques) chez les personnes âgées, ce qui pourrait être en partie dû à une diminution du tissu adipeux *(Colbert et al., 2004; Stewart et al., 2007)*.

L'amélioration de la force musculaire pourrait s'expliquer par un remodelage des jonctions neuromusculaires, notamment une augmentation de la longueur et du nombre de terminaisons nerveuses *(Rudolf et al., 2014)*.

L'exercice est donc la stratégie la plus efficace pour limiter la sarcopénie. Cependant, même si la pratique d'une activité physique engendre une masse musculaire plus importante, cela n'empêche pas qu'elle diminue avec l'âge *(Manini et al., 2009)*.

De plus, au cours du vieillissement apparaissent fréquemment des douleurs chroniques qui rendent plus difficile la pratique d'activités physiques. Or, une activité physique réduite pendant deux semaines entraîne une diminution de la synthèse protéique et de la masse musculaire chez des personnes âgées *(Breen et al., 2013)*. A fortiori, l'alitement, situation qui peut être assez courante chez les personnes âgées, entraîne une altération conséquente de la synthèse protéique musculaire, ainsi que de la masse et de la force musculaire *(Coker et al., 2015; Kortebein et al., 2007)*. Drummond et son équipe suggèrent que ces effets pourraient être dus à une diminution de l'activation de la voie mTOR et de l'expression des protéines de transport d'acides aminés *(Drummond et al., 2012)*.

Le manque d'activité physique accélère donc l'apparition de la sarcopénie, mais la diminution de mobilité due à l'âge rend difficile l'activité physique, créant alors un cercle vicieux.

3.6.3. Altérations des jonctions neuromusculaires

Comme cela a été décrit, la diminution de la fonction musculaire excède la diminution de la masse et ceci pourrait, entre autre, être dû à une diminution du nombre de motoneurones. En effet, le vieillissement du système nerveux central entraine une altération structurelle et fonctionnelle des jonctions neuromusculaires (notamment un remodelage pré et post-synaptique), conduisant à la dénervation impliquée dans la diminution de fonctionnalité observée dans la sarcopénie *(Jang and Van Remmen, 2011)*.

3.6.4. Extraction splanchnique

Avant d'arriver au niveau systémique, environ 50% des acides aminés apportés par le repas sont captés au niveau de l'intestin et du foie, limitant l'hyperaminoacidémie postprandiale, c'est ce qu'on appelle l'extraction splanchnique *(Elwyn et al., 1968)*. Or, certains auteurs ont mis en évidence une augmentation de cette extraction chez les sujets âgés, pour la leucine, la phénylalanine et le glutamate *(Boirie et al., 1997b; Rutten et al., 2005; Volpi et al., 1999)*. Cette augmentation entraînant une diminution de l'aminoacidémie postprandiale et donc de la quantité d'acides aminés disponibles pour le muscle *(Boirie et al., 1997b)*, elle pourrait être en partie responsable de l'altération de la stimulation de synthèse protéique musculaire postprandiale chez l'âgé. Des travaux chez le rat âgé ont montré que l'augmentation de l'extraction splanchnique observée ne correspondait pas à une augmentation de la synthèse protéique intestinale et hépatique, ni à une modification de la synthèse d'urée ou de l'activité des cellules de Küpffer. Elle pourrait résulter simplement du fait qu'avec la perte de masse maigre, l'aire splanchnique représente une plus grande proportion du métabolisme protéique corporel *(Jourdan et al., 2011)*. D'autres auteurs n'établissent aucune corrélation entre l'augmentation de l'extraction splanchnique et la diminution de la synthèse protéique musculaire *(Moreau et al., 2013; Volpi et al., 1999)*, voire n'observent pas de différence en terme d'extraction splanchnique *(Koopman et al., 2009)*.

Au cours du vieillissement le métabolisme protéique musculaire est donc profondément modifié. Même si *in vivo*, à jeun, les activités de synthèse et de dégradation des protéines musculaires se maintiennent relativement bien, à l'état nourri, la synthèse protéique est moins stimulée et la protéolyse est moins inhibée. Ainsi réduit, l'anabolisme protéique musculaire postprandial ne parvient plus à compenser les périodes cataboliques observées normalement à jeun. Cette altération de l'anabolisme postprandial correspond à une diminution de la sensibilité de la synthèse protéique aux acides aminés, et en particulier à la leucine, mais aussi à une modification de l'action de l'insuline. Avec l'avancée en âge, cette dernière semble en effet moins à même de faciliter la stimulation de la synthèse protéique par les acides aminés, d'induire une vasodilatation et d'inhiber la protéolyse. Le stress oxydant, la glycation des protéines et l'inflammation pourraient contribuer à expliquer cette résistance anabolique du muscle, mais aussi à aggraver le catabolisme post-absorptif musculaire de par leurs actions sur la régulation des voies de synthèse et de dégradation des protéines musculaires. D'autres facteurs liés au vieillissement tels que la baisse de la sécrétion de testostérone, d'IGF-1 et de GH, l'augmentation de sensibilité aux glucocorticoïdes, la diminution de l'activité physique, l'altération des jonctions neuromusculaires ou encore l'augmentation de l'extraction splanchnique, pourraient eux aussi contribuer aux dérégulation du métabolisme protéique musculaire.

Nombre de ces altérations observées au cours du vieillissement sain, peuvent toutefois être aggravées et amplifiées par différents facteurs environnementaux, et notamment nutritionnels. Il a en effet été montré que certains régimes, en particulier des régimes riches en sucres simples peuvent favoriser l'apparition du stress oxydant, de l'inflammation, de la glycation des protéines et de la résistance à l'insuline. On peut donc se demander dans quelle mesure ce type d'alimentation pourrait favoriser l'altération du métabolisme protéique musculaire et donc la perte de masse maigre liée à l'âge, et plus généralement entraîner une accélération du vieillissement.

CHAPITRE II – LE REGIME RICHE EN SUCRES AJOUTES : UN ACCELERATEUR DU VIEILLISSEMENT ?

1. DONNEES GENERALES

1.1. La consommation de sucres ajoutés

Les glucides sont des nutriments essentiels pour l'organisme et représentent notre principale source d'énergie. Cependant, il existe de nombreuses formes de glucides dont la qualité nutritionnelle n'est pas équivalente. Environ la moitié de ces glucides sont apportés sous forme de glucides complexes, principalement d'amidon, particulièrement présent dans les produits céréaliers et les pommes de terres. L'autre moitié est apportée sous forme de glucides simples, communément désignés sous le terme de sucres. Dans le langage courant, les sucres font référence aux monosaccharides comprenant le glucose, le fructose et le galactose, et aux disaccharides, principalement le lactose et le saccharose (le sucre de table). Les sucres ajoutés sont définis comme les sucres consommés de manière séparée à table ou utilisés comme ingrédients dans les aliments préparés ou transformés *(Johnson and Frary, 2001)*. Si chimiquement ils sont identiques aux sucres naturellement trouvés dans les aliments, la notion de sucres ajoutés a été créée pour aider les consommateurs à repérer les aliments dont l'apport énergétique a été augmenté, sans amélioration de la qualité nutritionnelle. Elle doit permettre de limiter l'augmentation de la consommation de sucres ajoutés observée depuis 1950, en Europe et aux États-Unis. En effet, alors que selon les recommandations de l'OMS les sucres devraient représenter au maximum 10% de l'énergie totale consommée *("WHO | WHO opens public consultation on draft sugars guideline," 2014)*, en France cet apport est estimé en moyenne à 17-18% (rapport INCA2 – 2006). L'augmentation de la consommation de sucres ajoutés correspond à un changement de régime alimentaire, fournissant de moins en moins de glucides complexes et de plus en plus de glucides simples, apportés par les produits hautement raffinés tels que les biscuits sucrés, les céréales du petit déjeuner et les boissons sucrées. En plus d'apporter une quantité importante de sucres, la consommation de boissons sucrées a été associée à une diminution de la qualité du régime alimentaire *(Marshall et al., 2005)*.

Ces changements alimentaires coïncident avec l'augmentation de la prévalence du syndrome métabolique, poussant de nombreux auteurs à étudier l'implication d'un régime riche en sucres ajoutés dans l'apparition des désordres métaboliques. Bien que controversés, les résultats des études comparant les effets de la consommation de différents types de sucres semblent désigner le fructose comme responsable des dérégulations métaboliques induites par un régime riche en sucre. En effet, consommé en excès, le fructose est capable d'induire de nombreuses

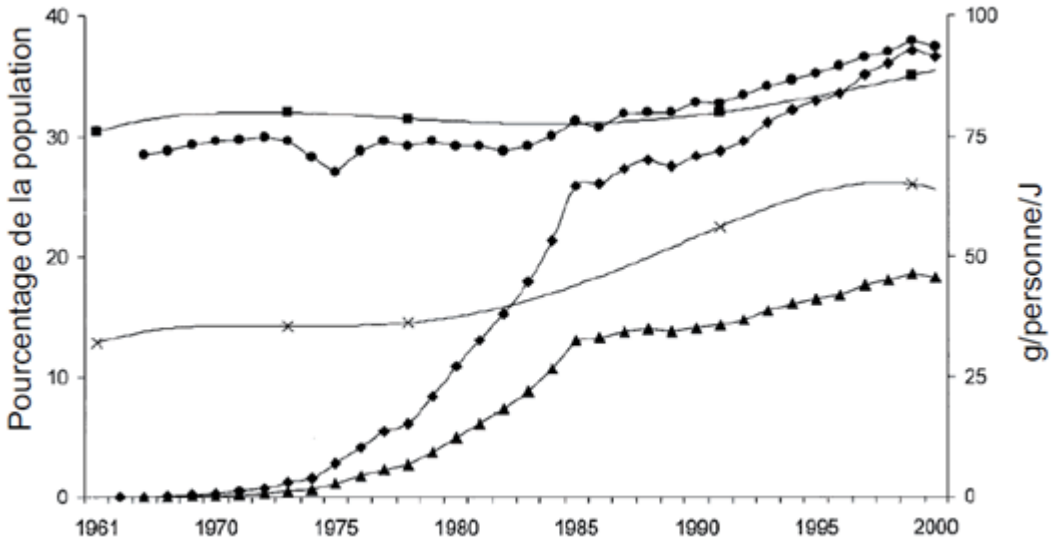


Figure 12 : Estimation de la consommation de fructose aux États-Unis.
Fructose total (□), fructose libre (▲), fructose contenu dans l'alimentation sous forme de sirops dérivés du maïs (High Fructose Corn Syrup, HFCS) (♦),prévalence du surpoids (■), prévalence de l'obésité (X) (*Halimi, 2010*).

perturbations caractéristiques du syndrome métabolique, telles qu'une résitsance à l'insuline, une hypertension ou encore une dyslipidémie et une stéatose hépatique *(Tappy and Lê, 2010)*.

1.2. Le fructose : structure et source de consommation

Le fructose (α-D-fructofuranose) est un monosaccharide à 6 carbones dont la formule est $C_6H_{12}O_6$. Il est naturellement présent dans le miel et les fruits, sous sa forme simple ou lié au glucose, sous forme de saccharose. Il peut également être trouvé sous forme d'inuline (polymère de fructose) dans certains végétaux, en particulier la chicorée ou les oignons. Cependant, le fructose présent naturellement dans l'alimentation ne représente qu'une faible partie du fructose total consommé, et cette contribution tend plutôt à diminuer depuis 1978 aux États-Unis *(Marriott et al., 2009)*. Si la consommation de fructose a augmenté depuis les années 1970, c'est parce qu'il est utilisé par l'industrie agroalimentaire pour son pouvoir sucrant (environ 30% supérieur à celui du saccharose) et son faible coût en tant qu'ingrédient. Aujourd'hui, il est donc consommé en grande majorité sous forme de sucres ajoutés et représente plus de 9% des apports énergétiques, aux États-Unis *(Halimi et al., 2010; Marriott et al., 2009)* (**Figure 12**). Dans les produits raffinés, il est ajouté principalement sous forme de saccharose, mais aussi sous forme de sirops de maïs à haute teneur en fructose (High Fructose Corn Syrup – HFCS). Ils sont obtenus après broyage humide du maïs pour extraire l'amidon, suivi d'une saccharification et d'une liquéfaction enzymatique pour hydrolyser l'amidon en monomères de glucose, puis d'une isomérisation du glucose en fructose et enfin d'une purification et d'un mélange afin d'obtenir la concentration souhaitée *(Hanover and White, 1993)*. Ils peuvent contenir jusqu'à 90% de fructose, cependant la plupart des HFCS utilisés en contiennent entre 42% et 55%, le reste des glucides étant apporté par du glucose (principalement sous forme libre, mais aussi sous forme de maltose et malto-triose) *(White, 2008)*. Les HFCS-42 sont les plus utilisés dans les pâtisseries et biscuits industriels et les HFCS-55 dans les boissons sucrées.

2. METABOLISME DU FRUCTOSE

2.1. Absorption

Les glucides ne peuvent être absorbés que sous forme de monosaccharides. Par conséquent, s'il est apporté sous forme de saccharose, le fructose va, en premier lieu, être libéré au niveau de la bordure en brosse de la barrière intestinale, sous l'action de la sucrase qui va cliver le saccharose en glucose et fructose *(Gray and Ingelfinger, 1966)*. Le fructose est ensuite transporté dans les entérocytes de manière indépendante du sodium, *via* le transporteur de glucose 5 (GLUT5), seul transporteur spécifique du fructose (Km entre 6 et 15 mM) *(Burant et al., 1992; Douard and Ferraris,*

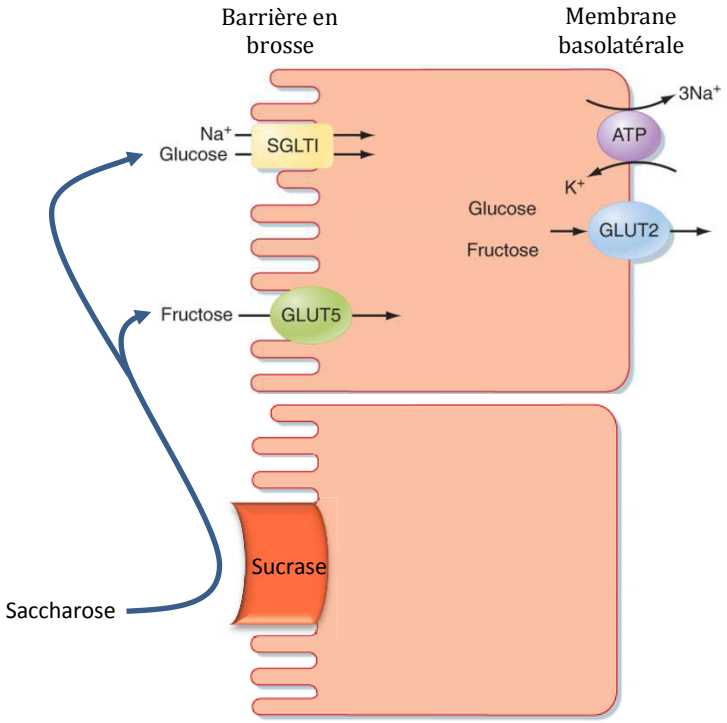


Figure 13 : Absorption intestinale du fructose et du glucose.
GLUT2 : transporteur de glucose 2 ; GLUT5 : transporteur de glucose 5 (transporteur spécifique du fructose) ; SGLT1 : sodium glucose transport protéine 1. Le fructose est transporté à l'intérieur de l'entérocyte indépendamment du sodium par le transporteur GLUT5. S'il arrive sous forme de saccharose il est d'abord clivé en fructose + glucose par la sucrase au niveau de la barrière en brosse. Une fois dans l'entérocyte, le fructose non métabolisé est transféré dans le sang au niveau de la membrane basolatérale par le transporteur GLUT2.

2008) (**Figure 13**). Cette absorption est plus lente que celle du glucose, et le temps de contact prolongé entre le fructose et la barrière intestinale qui en découle pourrait entraîner une stimulation de signaux de satiété *(Maljaars et al., 2007)*. De plus, l'absorption du fructose est peu efficace lorsqu'il est consommé seul, et semble adaptée uniquement pour des faibles concentrations de fructose, comme c'est le cas lors de la consommation de miel ou de fruits *(Truswell et al., 1988)*. La capacité maximale d'absorption du fructose est en fait atteinte lorsqu'il est co-ingéré avec du glucose à un ratio de 1 : 1, ce qui est le plus courant dans l'alimentation puisque la majorité du fructose est apporté sous forme de saccharose *(Latulippe and Skoog, 2011; Riby et al., 1993)*. La façon dont le glucose stimule l'absorption du fructose n'est pas totalement élucidée mais pourrait impliquer un ralentissement de la vidange gastrique, ainsi qu'un transport para cellulaire du fructose entrainé par le flux engendré par modification de la pression osmotique suite à l'absorption du glucose *(Shi et al., 1997)*. Il semblerait que le fructose provenant du miel, du saccharose ou des HFCS soit absorbé de la même manière et que le glucose exerce son effet facilitateur sur l'absorption intestinale du fructose quelle que soit la forme sous laquelle il est apporté.

Il a été montré chez le lapin, le mini porc et le rat, qu'une partie du fructose était directement métabolisée dans les entérocytes en lactate et en glucose *(Bismut et al., 1993; Bjorkman et al., 1984; Holloway and Parsons, 1984)*. Cela peut représenter jusqu'à à 60% du fructose ingéré à des très faibles concentrations, mais ce pourcentage diminue lorsque les quantités de fructose augmentent comme c'est le cas lors d'un repas contenant du fructose, et encore plus en cas de consommation de produits raffinés *(Bismut et al., 1993)*. Le fructose non utilisé par les entérocytes est ensuite transféré dans la circulation sanguine *via* GLUT 2 au niveau de la membrane baso-latérale et va être dirigé vers le foie. Contrairement au glucose, la très grande majorité du fructose ingéré sera métabolisée au niveau du foie et n'atteindra donc pas les autres organes.

2.2. Métabolisme hépatique

Le métabolisme hépatique du fructose est résumé dans la **Figure 14** *(Lim et al., 2010)*. Dans un premier temps le fructose transporté par la veine porte est extrait par le foie *via* le transporteur GLUT2, qui a une faible affinité pour le fructose (Km ~ 60 mM contre ~10 mM pour le glucose), mais une forte capacité à le transporter. Chez l'homme, au minimum 50% du fructose présent dans la circulation sanguine est métabolisé par le foie *(Mendeloff and Weichselbaum, 1953)*. Chez le rat nourri ce taux d'extraction est de 55% et s'élève à 71% chez le rat à jeun *(Topping and Mayes, 1971)*. Cette extraction très efficace explique la faible augmentation de la fructosémie

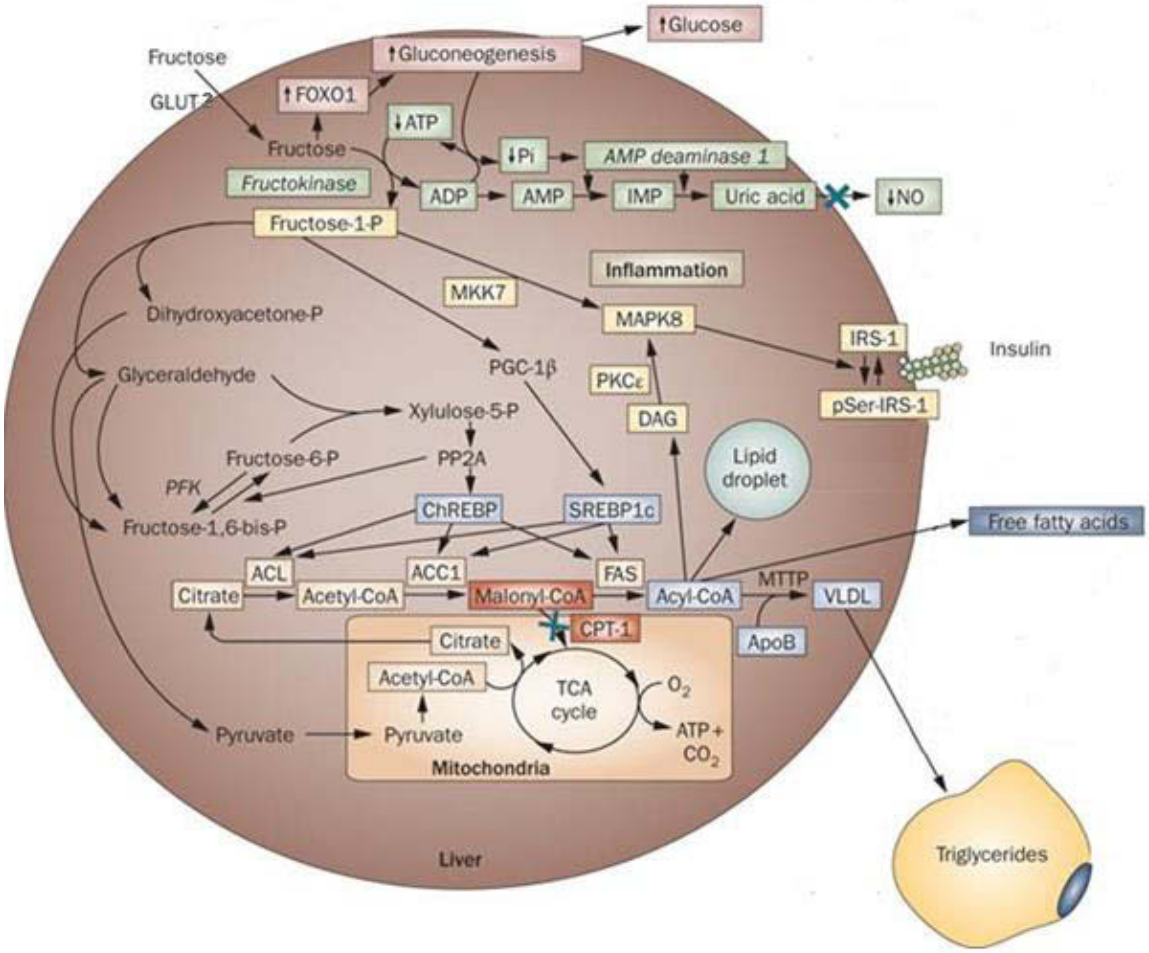


Figure 14 : Métabolisme hépatique du fructose et conséquences sur le métabolisme lipidique (adapté de *Lim, 2010*).
ACL : ATP citrate lyase ; ACC : acétyl-CoA carboxylase ; apo B : apolipoprotein B-100 ; ChREBP : carbohydrate responsive element binding protein ; CPT-1: carnitine palmitoyl transférase 1 ; FAS : fatty acid synthase ; DAG :diacylglycerol ; FOXO1, forkhead box protein O1; IRS-1 : substrat du récepteur à l'insuline-1 ; LPL : lipoprotein lipase; MAPK mitogen-activated protein kinase 8; MKK7 : mitogen-activated protein kinase kinase 7; MTTP : microsomal triglyceride transfer protein ; NO :monoxyde d'azote ; PFK :6-phosphofructokinase; PGC-1β : peroxysome proliferator activator receptor coactivator 1 ; Pi : inorganic phosphate; PKCε : protéine kinase Cε; AMP : adénosine monophosphate;ApoB : apolipoprotéine B; IMP : inositol monophosphate ;PFK :phosphofructokinase ; PP2A : protein phosphatase 2 ; pSer-IRS-1 : serine phosphorylated IRS-1; SREPB-1c : sterol regulatory element binding protein ; TCA cycle: cycle des acides tricarboxylique (cycle de Krebs).

systémique après une ingestion de fructose. Une fois dans l'hépatocyte, le fructose va être rapidement et très efficacement phosphorylé en fructose-1P par la fructokinase, avec l'utilisation d'une molécule d'ATP *(Mayes, 1993).* À l'inverse de la glucokinase et la phosphofructokinase, impliquées dans les premières étapes de la glycolyse, qui sont inhibées respectivement par l'ATP et le citrate, la fructokinase ne subit pas de rétrocontrôle négatif. De plus, le Km de la glucokinase pour le glucose est relativement important, alors que la fructokinase a une Vmax élevée (0,3 µmol/min/g) et une très forte affinité pour le fructose (Km = 0,5 mM) *(Adelman et al., 1967; Heinz et al., 1968; Iynedjian, 1993)*. Autre différence avec la glucokinase, la fructokinase n'est pas régulée par l'insuline et en conséquence n'est pas inductible par le repas. En effet, la consommation de fructose entraîne une sécrétion d'insuline quasiment nulle, probablement du fait de l'absence de transporteurs GLUT5 au niveau des cellules β du pancréas productrices d'insuline *(Sato et al., 1996)*. Cependant, la présence de fructose potentialise la sécrétion d'insuline induite par le glucose *(Grant et al., 1980)* et le saccharose induit une sécrétion d'insuline intermédiaire entre celle du fructose, proche de zéro, et celle du glucose, qui représente la valeur maximale de référence *(Lee and Wolever, 1998)*.

Du fait de cette absence de régulation et de l'efficacité de la fructokinase, la totalité du fructose présent dans l'hépatocyte va être phosphorylé, engendrant une déplétion du pool d'ATP intracellulaire. Ceci va avoir pour conséquence d'activer l'AMP désaminase-1 conduisant à la production d'acide urique, potentiellement toxique pour la cellule *(Fox and Kelley, 1972; Johnson et al., 2009)*. La fructokinase est donc adaptée pour gérer de faibles concentrations de fructose mais de façon constante, en revanche elle n'est pas adaptée en cas d'arrivée importante de fructose.

Suite à l'action de la fructokinase, le fructose-1P est transformé par l'aldolase B en trioses phosphate : le glycéraldéhyde et le di-hydroxyacétone phosphate (DHAP), rejoignant ainsi la voie de la glycolyse. Ces trioses phosphate vont alors être convertis en majorité en glucose (~50%) et en glycogène (~15%) *via* la néoglucogenèse *(Koo et al., 2008)*. Le glycéraldéhyde peut également être phosphorylé par la triokinase en glycéraldéhyde-3P *(Mayes, 1993)*, ensuite oxydé en pyruvate. Ce pyruvate sera alors soit réduit en lactate (~25% du fructose ingéré) *(Bjorkman et al., 1984)*, soit décarboxylé en acétylcoenzyme A (acétyl-CoA), par la pyruvate déshydrogénase. *Via* le cycle de Krebs, l'acétyl-CoA va être converti en citrate, alors disponible pour la lipogenèse *de novo* (De Novo Lipogenesis – DNL) (moins de 5% du fructose ingéré). De plus, le DHAP peut également être converti en glycérol 3 phosphate, pouvant conduire à la synthèse de triglycérides *(Coleman and Lee, 2004)*.

2.3. Effets du fructose sur le métabolisme lipidique

2.3.1. Carrefour entre métabolisme du fructose et synthèse lipidique

Le fructose est donc capable de stimuler la synthèse de triglycérides (TG) *via* le DHAP et le pyruvate. Le DHAP entre dans la voie de l'acide phosphatidique après réduction en glycérol-3P par la dihydroxyacétone-3-phosphate déshydrogénase. Le glycérol-3P subi ensuite deux acylations par la Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase (GPAT) puis la 1-Acylglycerol-3-Phosphate II Acyltransferase, pour donner l'acide phosphatidique, qui sera converti en diacylglycérol (DG) sous l'action de la phosphatidate phosphatase, puis en TG après acylation par la diglycéride – acyl transférase *(Lehner and Kuksis, 1996)*. Ces enzymes sont donc déterminantes dans la régulation de la synthèse et l'accumulation des triglycérides dans le foie *(Coleman and Lee, 2004; Nguyen et al., 2008)*.

Le pyruvate est lui, converti en citrate *via* le cycle de Krebs dans la mitochondrie. Une fois dans le cytosol, le citrate est retransformé en acétyl-CoA par l'ATP-citrate lyase (ACLY), enzyme spécifique de la lipogenèse. L'acétyl-CoA carboxylase (ACC), enzyme limitante de la DNL transfère ensuite un bicarbonate sur l'acétyl-CoA pour donner le malonyl-CoA qui sera transformé en acide gras saturé (AGS) par le complexe multienzymatique acide gras synthase ou fatty acid synthase (FAS). Le principal produit de la FAS est le palmitate (C16 :0), mais du stéarate (C18 :0) ou des acides gras plus courts peuvent également être produits. Ces AGS sont ensuite convertis en acides gras mono-insaturés, puis en DG et TG. Ces TG, qu'ils soient obtenus à partir du DHAP ou du pyruvate, seront stockés sous forme de gouttelettes lipidiques ou bien incorporés aux VLDL pour être sécrétés dans le sang. Le malonyl-CoA, en plus de servir de substrat à la synthèse des AGS inhibe leur dégradation *via* l'inhibition de la carnitine palmitoyltransférase-1, enzyme limitante de la β-oxydation *(McGarry et al., 1978)*.

2.3.2. Régulation des facteurs de transcriptions et synthèse lipidique

Le fructose fournit donc les substrats de la DNL, mais, comme le glucose, il est aussi capable d'augmenter l'expression génique de différentes enzymes impliquées dans la lipogenèse principalement *via* deux facteurs de transcription : le sterol regulatory response element binding protein-1c (SREBP-1c) et le carbohydrate response element binding protein (ChREBP) *(Koo et al., 2009)*. Ces protéines sont deux importants régulateurs de la lipogenèse *(Dentin et al., 2005)*. En effet, chez des souris KO, il a été montré que SREBP-1c était nécessaire pour induire l'augmentation de l'expression de plusieurs gènes codant pour certaines enzymes de la lipogenèse en

réponse au passage de l'état à jeun à l'état nourri et à un régime riche en saccharose *(Shimano et al., 1999)*. Au niveau hépatique, cette régulation concerne notamment l'ACLY, l'ACC, la FAS, la pyruvate kinase (PK) et la GPAT, en revanche, les gènes codants pour les enzymes impliquées dans la synthèse du cholestérol (HMGCoA réductase et HMGCoA synthase) ne semblent pas être régulés par SREBP-1c. ChREBP est lui aussi capable de stimuler l'expression génique de la PK, de l'ACC et de la FAS *(O'Callaghan et al., 2001; Rufo et al., 2001; Yamashita et al., 2001)*. L'importance de ChREBP dans le métabolisme du fructose a été mise en évidence chez des souris chez lesquelles la délétion du gène de ChREBP induit une intolérance au saccharose et au fructose *(Iizuka et al., 2004)*.

Le fructose semble activer ChREBP et SREBP-1c différemment du glucose. Koo et ses collaborateurs, ont montré chez le rat qu'un régime riche en fructose entraînait une présence de SREBP-1c au niveau nucléaire plus de deux fois supérieure à celle obtenue chez des rats nourris avec un régime riche en glucose *(Koo et al., 2009)*. Concernant ChREBP, la quantité présente dans le noyau était équivalente que les rats aient été nourris avec le régime riche en glucose ou en fructose. Cependant, il était présent en plus grande quantité sous sa forme active chez les rats nourris avec le fructose (près de 4 fois plus). D'autre part, les mécanismes d'activation semblent également différents selon le glucide ingéré. En effet, en cas de consommation de glucose, ChREBP serait activé *via* une augmentation de la production de xylulose-5P, un intermédiaire de la voie des pentoses phosphates. Cette augmentation induirait l'activation de la protéine phosphatase 2A (PPA2), entraînant la translocation de ChREBP dans le noyau et son activation par déphosphorylation *(Kabashima et al., 2003)*. Dans le cas d'un régime riche en fructose, l'augmentation de la forme active de ChREBP ne serait pas corrélée à une augmentation de la concentration de xylusose-5P, suggérant la possibilité d'une autre voie d'activation de ChREBP *(Nagai et al., 2009)*. Cette autre voie pourrait être dépendante des récepteurs nucléaires hépatiques des oxystérols, les LXR, dont ChREBP serait un gène cible *(Cha and Repa, 2007)*, puisque certains auteurs ont montré que les LXR-β sont augmentés lors d'un régime riche en fructose *(Prakash et al., 2014)*. Dans le cas d'une consommation de glucose, SREBP-1c est lui activé, à la fois par l'insuline, et par les LXR *(Bobard et al., 2005; Repa et al., 2000)*. La fixation de l'insuline sur son récepteur va en effet activer la voie PI3K/Akt, entraînant une activation de SREBP-1c *(Krycer et al., 2010)*. Le fructose pourrait lui activer SREBP-1c *via* les peroxisome proliferator-activated receptor-γ (PPAR-γ) *(Schultz et al., 2013)* et leur co-activateur (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 beta – PGC-1β), également co-activateur des LXR *(Dif et al., 2006; Nagai et al., 2009)* et capable d'activer de façon modérée les gènes de la néoglucogenèse *(Lin et al., 2003)*.

2.3.3. Régulation des facteurs de transcriptions et oxydation des lipides

Via SREBP-1c et ChREBP, le fructose est donc capable de réguler la synthèse lipidique, mais il agit également sur la β-oxydation. Des résultats obtenus chez des sujets obèses et en surpoids ont montré qu'après 10 semaines d'une consommation de boissons sucrées, le fructose, mais pas le glucose, entraînait une réduction de la β-oxydation *(Cox et al., 2012)*. Cette régulation pourrait impliquer les récepteurs nucléaires PPAR-α. Le fructose 1-P induit une diminution des ARNm hépatiques de PPAR-α, entraînant une diminution de l'expression de certaines enzymes impliquées dans la β-oxydation, telles que l'Acyl CoA Oxydase (ACOX) et la Carnitine Palmitoyl Transferase-1 (CPT-1) *(Nagai et al., 2002; Roglans et al., 2007, 2002)*. La diminution de l'expression protéique de PPAR-α a également été montrée chez des souris nourries avec un régime riche en saccharose *(Oliveira et al., 2014)*.

Que ce soit au niveau intestinal ou hépatique, le métabolisme du fructose est donc adapté à de faibles apports. On peut donc imaginer que l'augmentation de ces apports va engendrer de nombreuses dérégulations, notamment sur le métabolisme lipidique et glucidique, qui seront développées dans la suite de ce travail. Seront présentés des résultats obtenus aussi bien chez l'homme que chez l'animal et incluant les études où le fructose est l'unique source de glucide, mais aussi celles où il est apporté sous forme de saccharose ou de HFCS, modèle plus proche de la consommation réelle et donc plus pertinent au vu des effets entraînés par la présence de glucose.

3. LES EFFETS D'UN REGIME RICHE EN FRUCTOSE : UN VIEILLISSEMENT ACCELERE ?

L'objectif de la suite de ce chapitre était de décrire les conséquences métaboliques de la consommation d'un régime riche en sucres ajoutés, principalement dues au fructose, et de les mettre en lien avec celles du vieillissement. Nous avons pu constater que la majorité des effets observés sont similaires, et que la consommation d'une alimentation riche en sucres pourrait donc représenter un vieillissement accéléré.

3.1. Stress oxydant

Le vieillissement s'accompagne d'un déséquilibre du statut redox principalement dû à une augmentation de la production des espèces pro-oxydantes. Cette augmentation est notamment observée dans les mitochondries, comme cela a été montré chez les rats âgés, au niveau musculaire *(Capel et al., 2004)*, hépatique *(Hagen et al., 1997)*, cardiaque *(Kuka et al., 2013)* et cérébral *(Sohal et al., 1990)*. Parallèlement, même si cela reste plus controversé, les défenses anti-oxydantes semblent elles aussi affectées par le vieillissement, ce qui pourrait être expliqué par une altération de la voie Nrf2, régulant l'expression d'un grand nombre d'enzymes anti-oxydantes *(H. Zhang et al., 2015)*. Les études menées chez l'homme ou chez l'animal, comparant l'activité de différentes enzymes anti-oxydantes telles que la SOD, la catalase ou encore la GPx chez l'adulte et chez l'âgé, tendent à montrer une diminution de l'activité de ces enzymes avec l'âge *(H. Zhang et al., 2015)*. Cependant, ces résultats sont très dépendants de l'enzyme et du tissu étudié. Par exemple, si certains auteurs ont rapporté une diminution de l'activité totale de la SOD musculaire chez le sujet âgé *(Pansarasa et al., 1999)*, d'autres ont relevé une augmentation de son activité mitochondriale dans le foie et le cerveau de rats âgés *(Stojkovski et al., 2013)*. Ceci étant, dans cette dernière étude, malgré l'augmentation d'activité enzymatique, la capacité des hépatocytes à répondre à un traitement antioxydant (α-tocophérol) lors d'un stress (traitement thermique) était diminuée, confirmant ainsi les résultats obtenus par Zhang et ses collègues, rapportant une moindre efficacité de l'hépatocyte âgé à gérer le stress oxydant induit par un traitement thermique *(Zhang et al., 2003)*. Les altérations de l'ADN résultant de ce stress oxydant lié au vieillissement sont d'autant plus dommageables, que, chez des souris âgées, la capacité de réparation de l'ADN serait réduite d'environ 50% dans le foie et jusqu'à 85% au niveau cérébral *(Intano et al., 2003)*.

De manière semblable, un régime riche en fructose semble également s'accompagner d'une altération du statut redox qui a pu être mise en évidence au niveau systémique par une diminution du ratio glutathion réduit / glutathion oxydé

(GSH/GSSG) des érythrocytes *(Cummings et al., 2010)*. La capacité anti-oxydante totale dans le sang est également diminuée par un régime riche en fructose chez le rat, tout comme l'activité de la SOD et de la GPx des érythrocytes. La concentration de TBARS plasmatiques (Thiobarbituric acid reactive substances - marqueurs de la peroxydation lipidique) est, elle, augmentée *(Girard et al., 2006)*. Le stress oxydant induit par le fructose est également retrouvé au niveau tissulaire. Ainsi, selon Ruiz-Ramirez et son équipe, la production d'H_2O_2 des mitochondries hépatiques issues de rats consommant une eau de boisson contenant 30% de saccharose est supérieure à celle de rats témoins *(Ruiz-Ramírez et al., 2011)*. De plus, la quantité de TBARS hépatiques et plasmatiques et de protéines carbonylées a été augmentée par la consommation de l'eau sucrée. Une altération du statut redox hépatique a également été rapportée chez des rats qui ont consommé une eau de boisson contenant 10% de fructose, avec une diminution de l'expression génique et protéique de la catalase et de la SOD et une augmentation des protéines carbonylées *(Francini et al., 2010)*. Dans ces études, la consommation de sucre a donc engendré un stress oxydant au niveau hépatique, contrairement à d'autres travaux *(Busserolles et al., 2002; Kelley et al., 2004; Spolarics and Meyenhofer, 2000)*. Ceci peut s'expliquer par le fait que le foie possède des défenses anti-oxydantes supérieures à celle d'autres organes *(Grankvist et al., 1981; Robertson et al., 2004)*. Le foie serait donc plus à même de lutter contre l'augmentation de la production de ROS induite par une consommation de fructose, établie aussi bien au niveau cardiaque *(Thirunavukkarasu et al., 2004)*, que vasculaire *(Cannizzo et al., 2012)*, musculaire *(Jaiswal et al., 2015)*, ou encore pancréatique *(Busserolles et al., 2002)*.

On constate donc que la consommation d'un régime riche en fructose engendre une altération du statut redox similaire à celle observée au cours du vieillissement normal, qui résulte à la fois d'une diminution des capacités anti-oxydantes et d'une augmentation de la production de molécules pro-oxydantes.

3.2. Glycation des protéines

Au même titre que les ROS, les produits terminaux de glycation des protéines pourraient participer au déclin fonctionnel de l'organisme observé au cours du vieillissement *(Semba et al., 2010b)*. Or, il semblerait qu'une accumulation de AGEs apparaisse avec l'âge dans plusieurs tissus tels que le muscle squelettique *(Haus et al., 2007)*, le cerveau *(Kimur et al., 1996)*, ou encore les os *(Odetti et al., 2005)*.

Au premier abord peu étudié dans le phénomène de glycation des protéines, il semblerait que le fructose ait un pouvoir glyquant jusqu'à 10 fois plus important que celui du glucose, comme cela a pu être montré *in vitro* *(McPherson et al., 1988; Suárez et al., 1989)* et chez la levure *(Semchyshyn et al., 2011)*. L'intensité de la glycation

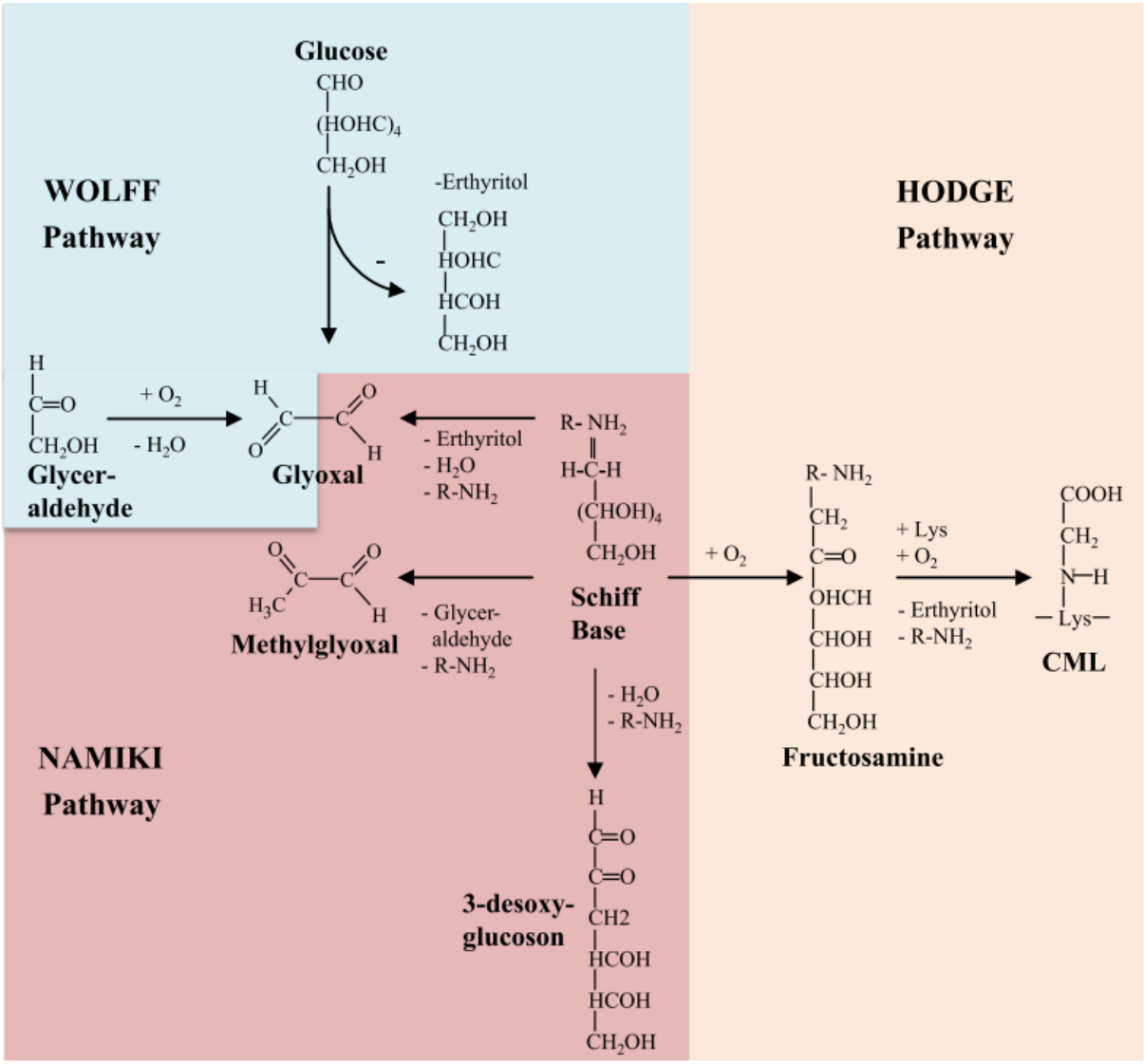


Figure 15 : Formation des α-oxaldéhydes et de la carboxyméthyl lysine (CML) à partir du glyceraldehyde et des bases de Schiff (*Ott et al., 2014*).

dépend en effet à la fois du temps de contact entre le sucre et la protéine mais aussi de la réactivité du sucre. Or, le glucose est un des sucres les moins réactifs et certains auteurs pensent que c'est la raison pour laquelle il a émergé comme le sucre transporteur de l'énergie dans le corps. Malgré sa plus forte réactivité, l'importante extraction hépatique du fructose, et donc la faible fructosémie qui suit l'ingestion de fructose serait plutôt un facteur protecteur vis-à-vis de la glycation. Cependant, certains métabolites du fructose obtenus à partir du glycéraldéhyde, et notamment les α-oxaldéhydes, tels que le glyoxal, le methylglyoxal et le 3-deoxyglucosone sont également très réactifs *(Luevano-Contreras and Chapman-Novakofski, 2010; Ott et al., 2014)* (**Figure 15**). De plus, à long terme, le fructose perturbe la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline, engendrant une hyperglycémie. Ainsi, une consommation prolongée de fructose chez le rongeur engendre une augmentation de l'hémoglobine glyquée *(Levi and Werman, 1998)* et une quantité de CML dans le foie *(Mastrocola et al., 2013)* plus élevée qu'une consommation de glucose. Cette production accrue de produits terminaux de glycation peut participer aux diverses altérations métaboliques induites par une consommation élevée de fructose qui seront décrites dans la suite de ce chapitre.

3.3. Inflammation

La présence d'une inflammation chronique à bas bruit due au vieillissement est aujourd'hui bien établie. Le terme « inflamm-aging », lui a même été consacré en 2000 par Franceschi *(Franceschi et al., 2000)*. Elle est définie comme une augmentation des niveaux systémiques de médiateurs de l'inflammation (x 2 à 3) tels que le TNF-α, l'IL-1, l'IL-6 et la CRP *(Petersen and Pedersen, 2005)*. De nombreuses études épidémiologiques ont en effet rapporté une élévation de ces marqueurs chez les personnes âgées *(Ballou et al., 1996; Bruunsgaard et al., 1999; Roubenoff et al., 1998; Wei et al., 1992)*.

L'immunosénescence, l'augmentation de masse grasse ainsi que le déclin des niveaux d'hormones stéroïdiennes (en particulier œstrogènes et testostérone) liés à l'âge pourraient en partie expliquer cette inflammation à bas bruit. En effet, l'altération du système immunitaire au cours du vieillissement, rend l'organisme plus sensible au stress et entraîne notamment une activation chronique des macrophages, producteurs de facteurs pro-inflammatoires *(Franceschi et al., 2000)*. La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires est d'autant plus importante que les macrophages sont très présents au niveau du tissu adipeux et qu'ils sont en partie régulés par les hormones stéroïdiennes *(Singh and Newman, 2011)*.

Si cette inflammation chronique est donc due au vieillissement normal, elle peut également être déclenchée ou amplifiée par des facteurs environnementaux. En

effet, la production de cytokines est dépendante de la voie de signalisation NF-κB qui est activée par la présence de ROS. Il n'est donc pas surprenant de constater qu'un régime riche en fructose est capable d'activer cette voie de signalisation et d'induire une inflammation *(Roglans et al., 2007)*.

Chez l'animal, cette inflammation a été mise en évidence par une élévation des concentrations de TNF-α, d'IL-6, et d'IL-1β au niveau sérique *(Hu et al., 2012)*, mais aussi hépatique *(Vasiljević et al., 2014)* et musculaire *(Kawamura et al., 2002)*. Chez l'homme, la concentration en CRP est positivement corrélée à la charge glycémique du régime *(Liu et al., 2002)* et une consommation de boissons à base de fructose entraîne aussi son augmentation. Pour certains auteurs, cet effet pro-inflammatoire serait spécifique du fructose *(Jameel et al., 2014)*, alors que d'autres l'observent également pour le saccharose et le glucose, avec toutefois une concentration en CRP plus élevée dans le cas de la consommation de fructose *(Aeberli et al., 2011)*.

La consommation de fructose, comme le vieillissement induit donc un cercle vicieux dans lequel interviennent les ROS, les AGEs et les médiateurs de l'inflammation. Ainsi, il est reconnu que les ROS sont capables d'induire la voie NF-κB, déclenchant alors une réponse inflammatoire, mais le TNF-α lui-même, engendre la production de ROS. De plus, les AGEs, dont la formation peut également être induite par les ROS, seraient eux aussi impliqués dans le processus inflammatoire à travers l'interaction avec leur récepteur RAGE *(Chavakis et al., 2004; Gaens et al., 2012)*. Ce cercle vicieux pourrait participer à l'apparition des altérations métaboliques induites par le fructose, dont la plus précoce est une modification du profil lipidique.

3.4. Dyslipidémie

Au cours de la vie, les concentrations en lipides plasmatiques semblent varier selon une courbe en cloche. En effet, il a fréquemment été observé que dans un premier temps les concentrations plasmatiques de cholestérol total, LDL-cholestérol et triglycérides augmentent avec l'âge, tandis que celle de HDL-cholestérol diminue *(Ferrara et al., 1997; Park et al., 2015)*. Ces changements sont d'autant plus marqués chez les sujets sédentaires et sont corrélés à une augmentation de la masse adipeuse et de la résistance à l'insuline. Cependant, après 50-60 ans, ces variations s'inversent, puisque les concentrations plasmatiques de cholestérol total et de LDL-cholestérol diminuent et celle de HDL-cholestérol augmente *(Ferrara et al., 1997; Park et al., 2015)*. Ce changement de profil pourrait être relié à la présence de maladies inflammatoires chroniques, à une réduction de l'absorption du cholestérol ou encore à une dénutrition. Cependant, les résultats de ces études transversales pourraient être en partie biaisées par le fait que les sujets qui vivent le plus longtemps sont ceux qui ont les valeurs de triglycérides et de cholestérols plasmatiques les plus faibles, comme

cela a été décrit par Vaarhorst et ses collaborateurs *(Vaarhorst et al., 2011)*. Le maintien de valeurs relativement basses de lipides plasmatiques pourrait donc être essentiel à un vieillissement sain.

Or, l'une des premières manifestations d'une consommation excessive de sucre, est l'apparition d'une dyslipidémie, principalement caractérisée par une augmentation des triglycérides plasmatiques. De par son métabolisme hépatique, le fructose est en effet capable de stimuler la synthèse de triglycérides, expliquant leur augmentation dans le plasma. Cette augmentation a été décrite par de nombreux auteurs chez le rat et la souris, avec des régimes riches en fructose ou en saccharose *(Al-Rasheed et al., 2014; Catena et al., 2003; D'Alessandro et al., 2013; Kazumi et al., 1997; Schultz et al., 2013)*, et confirmée chez l'homme. Il a été montré chez des hommes sains, qu'une semaine de régime riche en fructose (17% de l'énergie totale du régime) était suffisante pour induire une concentration en triglycérides à jeun plus élevée qu'une consommation équivalente de glucose *(Bantle et al., 2000)*. Les triglycérides postprandiaux sont, eux, significativement plus élevés après 42 jours de régime. Certains auteurs observent même cette différence d'effet du glucose et du fructose dès 24h *(Teff et al., 2004)*. Cette concentration accrue en triglycérides peut être en partie expliquée par une stimulation de la DNL. Stanhope et ses collaborateurs ont d'ailleurs montré que l'augmentation des triglycérides postprandiaux après dix semaines de consommation de fructose (25% de l'énergie totale) était associée à une augmentation de la DNL *(Stanhope et al., 2009)*, ce qui avait déjà été mis en évidence chez le rat *(Park et al., 1992)* . Cependant, il semblerait que la DNL ne contribue que partiellement à l'augmentation de la triglycéridémie *(Chong et al., 2007; Hudgins et al., 2000)*. L'hypertriglycéridémie postprandiale pourrait aussi être expliquée par une augmentation de la sécrétion hépatique de VLDL riches en triglycérides et une diminution de leur clairance *(Chong et al., 2007; Mamo et al., 1991; Zavaroni et al., 1982)*. Cette sécrétion de VLDL est régulée par l'apolipoprotéine B100 (ApoB) dont la concentration est augmentée par un régime riche en fructose *(Swarbrick et al., 2008)*.

De manière moins systématique, la consommation d'un régime riche en sucre induit également une augmentation de la concentration en cholestérol total et LDL-cholestérol plasmatiques, chez l'homme et chez l'animal *(Al-Rasheed et al., 2014; Maersk et al., 2012; Oliveira et al., 2014; Schultz et al., 2013; Yang et al., 2001)* même si une récente étude menée chez l'homme montre qu'une consommation de fructose sous forme de saccharose ou de HFCS, même à hauteur du 90ème percentile de la consommation moyenne (30% des apports énergétiques totaux) n'entraîne pas d'augmentation du cholestérol total, ni du HDL cholestérol *(Lowndes et al., 2014)*.

On constate donc qu'une alimentation riche en sucres ajoutés va induire une augmentation de la concentration des lipides plasmatiques, et en particulier des triglycérides alors que celle-ci semble nuire à la longévité. Cette augmentation est en grande partie due à l'augmentation de DNL qui a lieu au niveau hépatique et le foie va donc être le premier organe touché par une consommation excessive de sucre.

3.5. Stéatose hépatique non alcoolique

L'âge apparaît comme un facteur de risque pour de nombreuses maladies métaboliques et notamment celles qui touchent le foie. La perturbation hépatique liée à l'âge la plus décrite est l'apparition d'une stéatose hépatique non alcoolique (SHNA), caractérisée par une accumulation excessive de triglycérides dans le foie. Lorsqu'elle est accompagnée de lésions cellulaires et d'une augmentation de l'inflammation, cette pathologie évolue vers une stéato-hépatite non alcoolique, augmentant le risque de développer certaines complications telles qu'une cirrhose, une insuffisance hépatique ou encore un carcinome hépatocellulaire. L'accumulation de triglycérides dans le foie apparait comme un déséquilibre du métabolisme lipidique hépatique, c'est-à-dire que l'apport ou la synthèse d'acides gras excède leur élimination. Ces acides gras peuvent provenir de l'alimentation, de la lipogenèse *de novo*, ou de la lipolyse dans les tissus périphériques (essentiellement le tissu adipeux). L'élimination des lipides du foie peut avoir lieu *via* la β-oxydation, la ré-estérification des acides gras ou bien leur export sous forme de triglycérides transportés dans les VLDL. La SHNA est peu fréquente chez les sujets jeunes mais sa prévalence augmente avec l'âge *(Bertolotti et al., 2014)*. Cependant, certains facteurs de risques génétiques ou environnementaux peuvent engendrer une apparition plus précoce, et c'est notamment le cas d'une alimentation riche en sucres ajoutés.

En effet, comme cela a été décrit plus tôt, le fructose est capable de perturber le métabolisme lipidique, en agissant à la fois sur la synthèse des acides gras et sur leur oxydation, et pourrait donc favoriser l'apparition de la SHNA même chez les sujets jeunes. La consommation de fructose est d'ailleurs considérée comme un facteur de risque important concernant le développement de la SHNA *(Abdelmalek et al., 2010; Ouyang et al., 2008; Thuy et al., 2008)*. La stimulation de la DNL par le fructose engendre en effet une accumulation de lipides ectopiques, essentiellement au niveau du foie (mais aussi du muscle) *(Lê et al., 2009; Maersk et al., 2012)*. Ishimoto et ses collaborateurs ont démontré l'implication du fructose dans la stéatose hépatique induite par un régime riche en gras et en saccharose, en utilisant des souris KO pour la fructokinase qui ont été protégées contre les effets délétères du régime *(Ishimoto et al., 2013)*. Ceci pourrait également mettre en avant un rôle de l'acide urique dans le développement de la stéatose hépatique, comme le suggèrent des travaux de

Lanaspa *(Lanaspa et al., 2012a, 2012b)*. En effet, *via* ChREBP, l'acide urique est capable de stimuler l'expression de la fructokinase, essentielle pour réguler le flux de fructose vers la DNL.

Les produits terminaux de glycation pourraient eux aussi médier les effets du fructose dans le développement de la SHNA. En effet, des résultats obtenus chez des individus obèses ont montré que l'accumulation de CML était significativement associée au niveau de stéatose hépatique *(Gaens et al., 2012)*. De plus, chez le rat, un régime riche en AGE est capable d'aggraver la stéatose hépatique, *via* l'augmentation du stress oxydant *(Leung et al., 2014)*. Mastrocola et son équipe ont récemment émit l'hypothèse que cet effet pourrait être médié par une stimulation de la lipogenèse par SREBP-1c. Ils ont montré, chez la souris, que la CML induite par une consommation de fructose (15% dans l'eau de boisson), entraînait une activation prolongée de SREBP-1c, *via* une augmentation de sa protéine clivante (SCAP – SREBP-cleavage activating protein) *(Mastrocola et al., 2013)*.

L'insuline étant également capable d'activer SREBP-1c, la présence d'une résistance à l'insuline induite par le fructose pourrait considérablement participer à la dérégulation de la lipogenèse. De plus, l'hyper-insulinémie est connue pour entraîner une perturbation du stockage des acides gras au niveau du tissu adipeux ainsi qu'une augmentation de leur captage par le foie *(Tilg and Moschen, 2008)*. Mais la présence de ces dépôts lipidiques ectopiques pourrait elle-même être en partie à l'origine de l'apparition d'une résistance à l'insuline *(Pagliassotti et al., 1996)*. Cependant, d'autres auteurs ont montré que SHNA et insulino-résistance n'étaient pas toujours associées *(Aparicio-Vergara et al., 2013; Sun and Lazar, 2013)*.

Il semble donc que le fructose joue un rôle majeur dans l'induction de la SHNA alors même que sans prédispositions génétiques particulières, le risque de développer cette pathologie augmente seulement entre 40 et 65 ans. Si le métabolisme du fructose peut expliquer de manière directe ses effets sur la stéatose hépatique, une implication de l'insulino-résistance n'est pas à exclure.

3.6. Sensibilité à l'insuline et tolérance au glucose

3.6.1. Altération du métabolisme glucidique

On parle d'insulino-résistance lorsqu'à jeun des concentrations d'insuline plus élevées que la normale sont nécessaires pour maintenir une glycémie normale. La prévalence du diabète de type 2, caractérisé entre autre par une résistance à l'insuline, augmente avec l'âge. En effet, il a été montré que la sensibilité à l'insuline était diminuée chez les personnes âgées, sans modification de la capacité de liaison de l'insuline à son récepteur *(Fink et al., 1983; Rowe et al., 1983)*. L'insuline, bien

qu'efficacement liée à son récepteur, engendrerait une moindre stimulation de la phosphorylation de son substrat IRS-1, et donc de la voie de signalisation qui en découle *(Seo et al., 2015)*. Cette altération de l'efficacité de l'insuline qui apparaît avec l'âge pourrait être due à la diminution d'activité physique ainsi qu'aux changements de composition corporelle qui accompagnent le vieillissement (notamment l'augmentation de masse grasse), plutôt qu'au vieillissement en lui-même *(Amati et al., 2009; Nishimura et al., 1988; Soriguer et al., 2014)*. En revanche, le vieillissement entraîne une diminution de la capacité de sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques en réponse au glucose *(Geloneze et al., 2014; Ihm et al., 2006; Szoke et al., 2008)* qui contribue également à la dérégulation du métabolisme du glucose *(Jensen et al., 2002)*.

Du fait de son métabolisme indépendant de l'insuline et de son index glycémique relativement faible, le fructose a été traditionnellement considéré comme un sucre à privilégier chez les individus diabétiques. Aujourd'hui, de nombreuses études pointent plutôt ses effets délétères sur la sensibilité à l'insuline.

Dès 1964, Cohen et Teitelbaum *(Cohen and Teitelbaum, 1964)* ont montré que des rats nourris avec un régime où l'amidon était remplacé par du saccharose (67% du régime), développaient une intolérance au glucose entre 21 et 40 jours après le début du régime. Cette intolérance au glucose apparaissait, même en diminuant la teneur en saccharose, au bout de 40 jours chez des rats nourris avec un régime 40% saccharose et 100 jours avec un régime 33% saccharose. Ils ont également montré que cette intolérance était réversible lorsque les rats repassaient à un régime dont l'unique source de glucide était l'amidon. Néanmoins, chez l'homme, les effets d'une consommation importante de sucres simples sont plus controversés *(Gibson et al., 2013)*, les résultats divergent fortement entre les études, probablement du fait de l'hétérogénéité des protocoles sur la dose et le type de sucre consommé et la durée de l'étude. Par exemple, une étude menée chez des adultes sains consommant un régime riche en fructose (25% des apports énergétiques totaux) pendant 6 jours a montré l'apparition d'une résistance à l'insuline *(Faeh et al., 2005)*, alors qu'une autre ne relève pas de différence de sensibilité à l'insuline entre des personnes consommant un régime dans lequel le saccharose représentait 25 ou 10% des apports énergétiques totaux pendant 6 semaines *(Black et al., 2006)*. Plusieurs études ont été conduites pour comparer les effets du glucose et du fructose sur l'homéostasie glucidique, et il semblerait que le fructose soit le principal responsable des effets de la consommation de saccharose sur la sensibilité à l'insuline. Thorburn et ces collaborateurs ont rapporté une altération de la sensibilité à l'insuline hépatique et périphérique chez des rats nourris avec un régime contentant 33% de fructose,

contrairement aux rats nourris avec un régime 33% glucose *(Thorburn et al., 1989)*. Des résultats similaires ont été obtenus chez le chien *(Martinez et al., 1994; Pamies-Andreu et al., 1995)* et chez l'homme *(Stanhope et al., 2009; Teff et al., 2004)*.

3.6.2. Cinétique de mise en place de l'insulino-résistance

Dans le cas d'un régime riche en saccharose, la résistance à l'insuline, apparaîtrait en premier lieu au niveau du foie. Storlien et ses collaborateurs, ont montré chez des rats nourris pendant 4 semaines avec un régime 66% saccharose, une diminution de la sensibilité à l'insuline se traduisant par une diminution de l'inhibition de la production hépatique de glucose plutôt que par une diminution du captage du glucose par les autres tissus *(Storlien et al., 1988)*. Les mêmes résultats ont été observés chez des rats nourris avec un régime 66% fructose *(Tobey et al., 1982)*. Cependant dans les travaux de Storlien, sans être significative, une diminution de la sensibilité à l'insuline a tout de même été mise en évidence au niveau du tissu adipeux blanc (~ 30%), de façon plus marquée qu'au niveau musculaire (~10%), en accord avec d'autres résultats *(Chun et al., 2010; Vrána and Kazdová, 1970)*. Lors d'une plus longue période expérimentale (8 semaines), la résistance à l'insuline apparait alors au niveau musculaire, même si le foie reste plus sensible à l'effet du régime riche en saccharose *(Pagliassotti and Prach, 1995; Pagliassotti et al., 1994)*.

L'apparition de la résistance à l'insuline se fait donc en plusieurs étapes, avec premièrement l'apparition d'une diminution de la sensibilité à l'insuline au niveau du foie, qui s'étend ensuite au tissu adipeux et au muscle. Cette altération se traduit tout d'abord par une augmentation de l'insulinémie, à jeun et en réponse à un repas. Ainsi, après 9 semaines de consommation de régime 60% fructose, Oudot et son équipe ont observé une augmentation significative de l'insulinémie chez des rats à jeun, mais pas de la glycémie *(Oudot et al., 2009)*. Ces résultats ont été confirmés par une étude similaire de 8 semaines mettant en évidence une augmentation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques pour produire l'insuline nécessaire à la prise en charge du glucose *(Khanal et al., 2010)*. Ceci indique que durant les premières étapes de mise en place de la résistance à l'insuline, la quantité d'insuline nécessaire à la prise en charge du glucose ingéré et produit augmente, mais que l'augmentation de la production par les cellules β du pancréas suffit à réguler la glycémie. Cependant, lorsque la période de surconsommation de sucre est prolongée, une intolérance au glucose apparaît, même si la période nécessaire varie selon les études. Chez des souris nourries avec un régime contenant 40% de saccharose, après 7 semaines d'expérimentation, la glycémie en réponse à une ingestion de glucose augmente plus que chez des souris contrôles *(Oliveira et al., 2014)*. Chez des sujets en surpoids et obèses, la consommation de boissons sucrées à

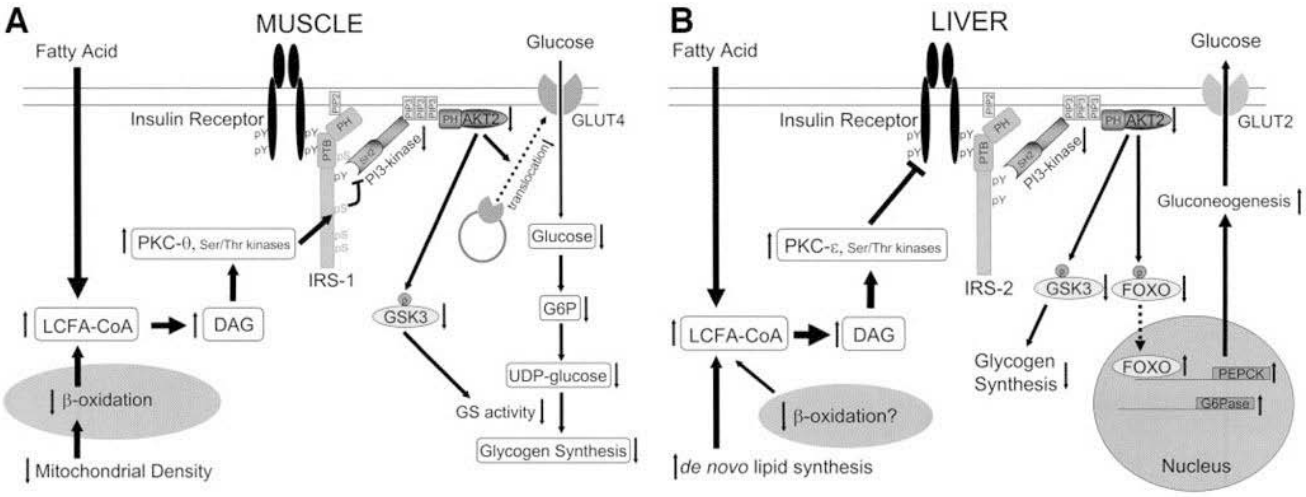


Figure 16 : Mécanismes d'induction de l'insulino résistance par les acides gras dans le muscle squelettique (A) et le foie (B) (*Morino, 2006*).

Au niveau du muscle squelettique, l'augmentation des acyl-CoA et des DAG intracellulaires entraîne l'activation de kinases sérine/thréonine telles que la PKC qui va phosphoryler le résidu sérine de IRS-1 et inhiber l'activité de la voie PI3K/Akt induite par l'insuline.

L'activité réduite d'Akt ne permet pas l'activation de la translocation de GLUT4 ni des autres voies dépendantes de l'Akt, entraînant un moindre captage du glucose en réponse à l'insuline.

Au niveau hépatique, l'augmentation des DAG entraîne une diminution de l'activité du récepteur de l'insuline et de la phosphorylation tyrosine de l'IRS-2, induisant une moindre stimulation de la glycogène synthase ainsi qu'une moindre phosphorylation de FOXO qui aboutit à une augmentation de la néoglucogenèse.

DAG : diacylglycérols; FOXO : forkhead box protein O ; LCFA-CoA : long chain fatty acyl CoA ; PTB : phosphotyrosine binding domain; PH : pleckstrin homology domain; SH2 : src homology domain; GS : glycogène synthase ; GSK3 : glycogène synthase kinase-3.

base de fructose (représentant 25% de l'énergie totale) pendant 10 semaines, a entraîné une augmentation significative de la glycémie à jeun (ce qui n'est pas le cas avec du glucose) *(Stanhope et al., 2009)*.

3.6.3. Mécanismes de l'insulino-résistance

La résistance à l'insuline induite par un régime riche en sucre semble concerner préférentiellement le métabolisme glucidique, puisque l'insuline est toujours capable de stimuler la DNL *(Shimomura et al., 2000)*, ce qui peut d'ailleurs expliquer le rôle du fructose dans l'apparition de la stéatose hépatique. Ceci crée donc un cercle vicieux car les dépôts ectopiques lipidiques hépatiques et musculaires sont eux-mêmes considérés par plusieurs auteurs comme un facteur menant à l'insulino-résistance *(Pan et al., 1997; Seppälä-Lindroos et al., 2002)*. Les mécanismes impliqués ont été décrits dans une revue par Morino *(Morino et al., 2006)* (**Figure 16**). Brièvement, l'augmentation de la concentration en diacylglycérols, qui peut être due à une inhibition de la β-oxydation et à une stimulation de la DNL (dans le foie) ou à une augmentation de la quantité d'acides gras captés (dans le foie et le muscle), active la protéine kinase C (PKC). L'activation de la PKC entraîne une diminution de l'activité du récepteur à l'insuline et donc de la phosphorylation de ses substrats (IRS-1 et IRS-2), conduisant à une inhibition des voies de signalisation qui en dépendent, notamment la voie PI3K/Akt. Au niveau hépatique, l'inhibition de la voie PI3K/Akt, va principalement conduire à une non-inhibition de la néoglucogenèse par l'insuline et une diminution de la synthèse de glycogène. Au niveau musculaire, cette inhibition va induire une moindre translocation des transporteurs de glucose GLUT4 vers la membrane plasmique, réduisant le potentiel captage du glucose. Cependant, la présence de lipides ectopiques n'entraîne pas à elle seule l'insulino-résistance, puisqu'il a été montré qu'une stéatose hépatique pouvait apparaître sans altération de la sensibilité à l'insuline *(Monetti et al., 2007; Sun and Lazar, 2013)*. D'autres facteurs peuvent donc participer à son apparition.

Les AGEs pourraient également réguler la phosphorylation de IRS-1 comme cela a été montré dans des cellules Hep3B traités à l'insuline *(Takeuchi et al., 2014)*. Ces travaux ont montré que les AGEs étaient capables d'activer la kinase c-Jun N-terminal (JNK) qui induit la phosphorylation de IRS-1 sur son résidu sérine-307. Cette phosphorylation inhibe d'une part la phosphorylation tyrosine de IRS-1 en réponse à l'insuline, et d'autre part l'association de IRS-1 et du récepteur à l'insuline *(Aguirre et al., 2002; Paz et al., 1997)*. La voie de signalisation qui découle de cette interaction, et donc l'action de l'insuline est alors inhibée. L'activité de JNK peut également être induite par les ROS *(Jaiswal et al., 2015)* et par le TNF-α *(Aguirre et al., 2000)*. Wei et son équipe ont montré chez le rat que JNK était impliqué dans la

diminution de la sensibilité à l'insuline hépatique induite par un régime riche en saccharose *(Wei and Pagliassotti, 2004)* ou par une perfusion de fructose *(Wei et al., 2005)*.

En outre, la dérégulation de l'activité des récepteurs à l'insuline n'explique pas à elle seule la perte de sensibilité à l'insuline, puisque la consommation d'un régime riche en fructose entraîne également une diminution de leur nombre au niveau musculaire et hépatique *(Catena et al., 2003)*.

Par ailleurs, l'augmentation des niveaux d'acide urique associée à une forte consommation de fructose a également été identifiée comme un des facteurs pouvant expliquer la diminution de la sensibilité à l'insuline *(Zhu et al., 2014)*.

La résistance à l'insuline entraîne donc une modification majeure du métabolisme qui apparait à la fois au cours du vieillissement et de la consommation d'un régime riche en sucre avec une altération des voies de signalisation dépendantes de l'insuline. Cependant, si dans le cas du régime riche en sucre, la fonction des cellules β-pancréatiques semble préservée, elle est altérée au cours du vieillissement. Les conséquences d'un régime riche en sucre sur l'homéostasie du métabolisme glucidique pourraient donc être d'autant plus importantes chez les personnes âgées.

3.7. Hypertension artérielle

La prévalence de l'hypertension artérielle augmente fortement avec l'âge, puisque selon l'étude Framingham, 90% des personnes normo-tensives à l'âge de 55 ans développent une hypertension dans les années qui suivent. Selon cette même étude, une hypertension apparait avant l'âge de 70 ans chez 2 hommes sur 3 et 3 femmes sur 5 *(Kapoor and Kapoor, 2013)*. Cette hypertension liée à l'âge peut avoir plusieurs causes et l'une d'entre elles est l'augmentation de la rigidité aortique *(Kaess et al., 2012)*. Or, la glycation du collagène et de l'élastine augmente fortement leur rigidité *(Sell and Monnier, 2012)*. Les AGEs pourraient donc être impliqués dans le dysfonctionnement endothélial lié à l'âge, d'autant plus qu'ils sont également capables d'inhiber la synthèse du NO par la nitric oxyde synthase endothéliale (eNOS) *(Xu et al., 2003)*.

Au vu de ces données et considérant le pouvoir glyquant du fructose, on peut s'attendre à ce qu'un régime riche en fructose ait des conséquences sur la tension artérielle. L'effet pro-hypertenseur du fructose a été bien décrit, chez l'animal et chez l'homme *(Hwang et al., 1987; Jalal et al., 2010; Martinez et al., 1994)*. Quelques études sont cependant en désaccord avec ces résultats, n'observant aucun effet du fructose *(D'Angelo et al., 2005)*, ou bien seulement des effets transitoires *(Park and Meyer, 1992;*

Takagawa et al., 2001). Outres les AGEs, d'autres mécanismes peuvent expliquer l'effet du fructose sur la tension artérielle, en particulier une augmentation de la rétention des sels, facteur majeur dans l'apparition de l'hypertension. En effet, *via* GLUT5, le fructose stimule l'expression de certains transporteurs de sels au niveau de l'intestin et des reins et augmente donc leur absorption. De plus, l'augmentation des apports de fructose engendre une diminution de l'excrétion urinaire de sels *(Soleimani, 2011)*. L'insulino-résistance, pourrait elle aussi participer à la dérégulation de la tension artérielle et plusieurs études suggèrent que l'amélioration de la sensibilité à l'insuline permet de prévenir l'apparition de l'hypertension. Il semblerait que l'hyperinsulinémie prolongée et la perte de sensibilité à l'insuline entraînent une augmentation de la production de catécholamines (par activation du système nerveux sympathique) et de vasoconstricteurs tels que l'endothéline I, l'angiotensine II et le thromboxane A2, ainsi qu'une diminution de la production de vasodilatateurs tels que le NO et la prostacycline 2, le tout entraînant une altération de la fonction endothéliale menant à l'hypertension *(Tran et al., 2009)*. Par ailleurs, l'augmentation de l'uricémie pourrait aussi être en partie responsable de cette hypertension *(Li et al., 2015; Mellen et al., 2006; Perlstein et al., 2006)*, notamment en inhibant l'action du NO *(Khosla et al., 2005)*. Chez des rats nourris avec un régime riche en fructose, la diminution de la production d'acide urique grâce à des inhibiteurs, permet de prévenir ou réverser l'augmentation de la tension artérielle *(Nakagawa et al., 2006)*. Cependant, ces effets de l'acide urique sur la tension peuvent être eux aussi médiés par l'insulino-résistance, puisque comme vu précédemment, l'hyper-uricémie entraîne une perte de sensibilité à l'insuline.

En favorisant la glycation des protéines, la consommation d'un régime riche en sucres ajoutés pourrait donc accélérer la perte d'élasticité du collagène et de l'élastine due à l'âge, augmentant ainsi le risque d'hypertension de manière précoce. De plus, les effets des AGEs sont renforcés par ceux de l'insulino-résistance, de la rétention de sels et de l'augmentation d'acide urique plasmatique.

3.8. Prise de poids et satiété

La composition corporelle et le poids subissent des modifications au fil des années. En effet, le poids augmente jusqu'à environ 60 ans puis diminue progressivement *(Jackson et al., 2012; Kiss et al., 2003)*. Cette évolution s'explique par une augmentation de la masse grasse jusqu'à l'âge de 70-75 ans qui ensuite se stabilise alors que la masse maigre elle diminue *(Bazzocchi et al., 2013; Carter et al., 2004; Kyle et al., 2001)*. Cependant certains auteurs observent une diminution de la masse grasse dès 60 ans, ce qui serait cohérent avec ce qui est observé au niveau des lipides plasmatiques *(Mott et al., 1999)*.

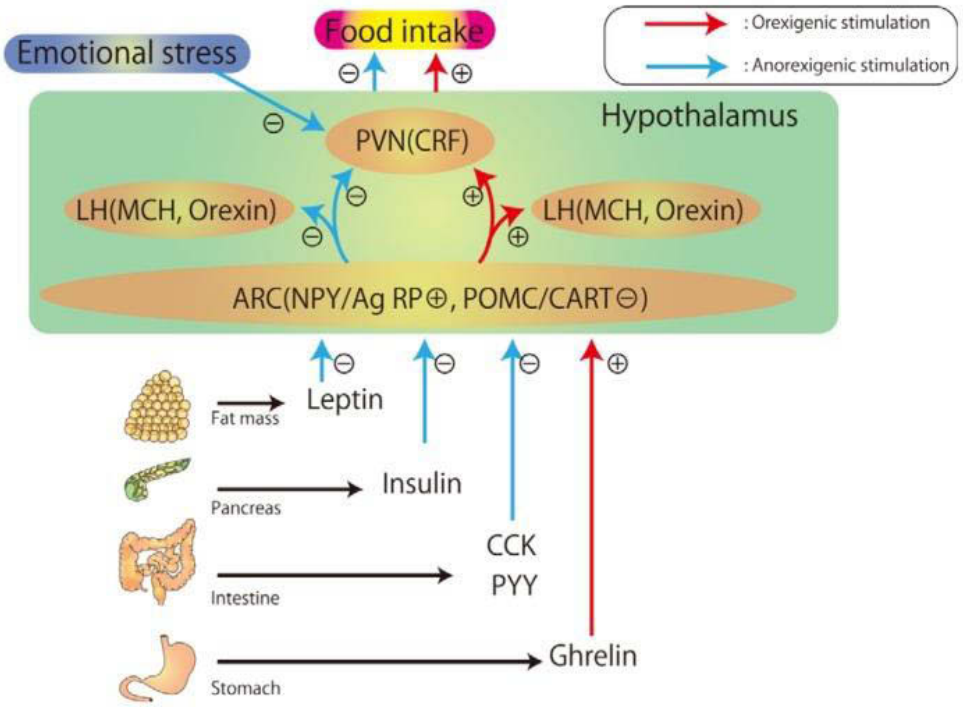


Figure 17 : Régulation de la prise alimentaire par les hormones oréxigènes et anoréxigènes (*Yagi, 2012*).
NPY: neuropeptide Y; POMC: proopiomélanocortine; AgRP: agouti-related protein; CART: transcrits liés à la cocaïne et aux amphétamines; ARC: noyau arqué; PVN: noyau para ventriculaire; MCH: hormone de mélano-concentration; LH: hypothalamus latéral; CRF: corticolibérine (corticotrophin-releasing factor)

Plusieurs auteurs ont suggéré que la consommation de fructose était responsable du développement de l'obésité en s'appuyant sur l'association chronologique entre l'augmentation de la prévalence de l'obésité et de la consommation en fructose mise en évidence par Bray en 2004 *(Bray et al., 2004)*. Cependant, si le fructose semble en effet capable d'induire les différentes altérations métaboliques associées à l'obésité, la prise de poids serait due à un excès d'énergie plutôt qu'au fructose en lui-même. En effet, le fructose est très souvent apporté par les boissons sucrées, qui sont consommées en plus des repas, et représentent donc un apport supplémentaire de calories. Il a d'ailleurs été bien démontré que la consommation de boissons sucrées est associée à une augmentation de l'indice de masse corporelle *(Bray and Popkin, 2013; Trumbo and Rivers, 2014)*. En revanche, les études menées chez l'homme impliquant une consommation modérée de fructose (sous forme de fructose pur ou de saccharose) n'ont pas démontré d'effet du fructose sur la prise de poids *(Dolan et al., 2009; White et al., 2010)*. De même chez l'animal, lorsque le fructose remplace une autre source de glucide, la majorité des études ne démontre pas d'effet sur la prise de poids *(Mooradian et al., 2000; Shapiro et al., 2008)*.

Le fructose pourrait tout de même avoir une influence sur la prise de poids de façon indirecte, du fait de son faible effet satiétogène. En effet, comme déjà évoqué, l'ingestion de fructose n'entraîne pas de sécrétion d'insuline, hormone ayant un effet anorexigène. De plus, comparativement au glucose, il induirait une sécrétion plus faible de leptine (anorexigène) et plus élevée de ghréline (orexigène) *(Lindqvist et al., 2008; Teff et al., 2004)* et entraînerait une résistance à la leptine *(Shapiro et al., 2008)*. Le fructose influence donc la sécrétion d'hormones régulatrices de la satiété au niveau périphérique, mais il a également une action au niveau central. D'une part, les neurones à neuropeptide Y (NPY) et « agouti related protein » (AgRP), neuropeptides orexigènes, sont activés par la ghréline et inhibés par la leptine *(Yagi et al., 2012*) (**Figure 17**). D'autre part, le fructose régule l'activité de ces neurones *via* le malonyl-CoA. Des études menées au niveau hypothalamique ont montré que la déplétion d'ATP due au métabolisme du fructose, compensée par une augmentation de l'AMP, entraîne une augmentation de l'activité de l'AMP kinase (AMPK). L'activité de l'ACC (substrat de l'AMPK) s'en trouve diminuée, menant à une moindre production de malonyl-CoA *(Lane and Cha, 2009)*. Or, le malonyl-CoA participe à la régulation des neurones à AgRP et NPY mais aussi des neurones à proopiomélanocortine (POMC) et des peptides reliés à la cocaïne et aux amphétamines (CART), ayant eux une action anorexigène *(Hu et al., 2003)*. Ainsi, une injection intracérébrale de fructose entraîne une augmentation de la prise alimentaire, contrairement au glucose *(Cha et al., 2008)*. Chez l'homme, Page et son équipe ont montré par IRM que le fructose n'était pas capable d'induire la satiété en

réduisant l'activité cérébrale dans les régions régulatrices de l'appétit, contrairement au glucose *(Page KA et al., 2013)*. De par son action sur les peptides orexigènes et anorexigènes, le fructose pourrait donc entrainer une augmentation de la prise alimentaire menant à terme à une prise de poids. Cependant, ces effets sur la satiété restent contestés *(Yu et al., 2013)*, certaines études montrent même une diminution de la prise alimentaire suite à la consommation de fructose *(Moran, 2009)*.

3.9. Atteinte du système nerveux central

Le système nerveux central (SNC) est particulièrement sensible aux effets du vieillissement, entraînant une altération des capacités cognitives. Le déclin cognitif est très hétérogène entre les individus, allant d'une légère perte de mémoire, à une démence plus avancée, mais touche un très grand nombre de personnes âgées. L'étude PAQUID (cohorte de personnes âgées de plus de 65 ans en Aquitaine) estime en effet que 17% des personnes âgées de plus de 75 ans sont atteintes de démence, ce qui représenterait environ 870 000 cas actuellement en France.

Le déclin cognitif se manifeste par une altération de l'attention, de la vitesse d'intégration de l'information, du langage, des fonctions exécutives et de la mémoire, principale fonction cérébrale touchée par le vieillissement *(Park and Reuter-Lorenz, 2009)*. Outre la mémoire, le vieillissement du SNC affecte également le sommeil, et la sensation de soif. Il va également participer à la réduction de la fonctionnalité musculaire et donc au développement de la sarcopénie en touchant les moto-neurones *(Aagaard et al., 2010)*.

Plusieurs modifications structurelles et fonctionnelles peuvent expliquer ces changements dus à l'âge, dont la diminution du volume de substance grise qui débute dès l'âge de 20 ans *(Terry and Katzman, 2001)*. Elle serait en partie due à une diminution de la taille des neurones et de la densité synaptique, mais aussi à une diminution du nombre de neurones corticaux, pouvant être induite par une agrégation de peptide β-amyloïde *(Dickstein et al., 2007; Resnick et al., 2003; Terry and Katzman, 2001)*. Le peptide β-amyloïde (βA) est un produit du clivage du β-amyloid precursor protein (APP) (protéine ubiquitaire portant un domaine transmembranaire) par des sécrétases. Lorsque les peptides βA sont produits en trop grand nombre ou non dégradés, ils peuvent être polymérisés en oligomères solubles, puis en fibrilles insolubles qui s'agrègent entre elles, constituant les plaques amyloïdes. Les oligomères solubles pourraient induire une cytotoxicité, *via* différents mécanismes, incluant une perturbation des membranes et une diminution de la transmission synaptique, le tout menant à une dégénérescence neuronale *(Crouch et al., 2008)*.

L'intégrité de la substance blanche est elle aussi altérée au cours du vieillissement et serait corrélée aux performances cognitives *(Madden et al., 2009; Rogalski et al., 2012)*.

Si ces altérations menant au déclin cognitif sont dues au vieillissement, l'hétérogénéité observée entre les individus suggère qu'elles peuvent être fortement influencées par l'environnement, c'est pourquoi un intérêt grandissant est porté à l'influence de la consommation de sucre sur la cognition. Une étude épidémiologique de 2011, a montré que la consommation en sucres totaux, et plus particulièrement en sucres ajoutés, glucose, saccharose et fructose ajouté, était inversement corrélée à la fonction cognitive chez des sujets âgés de 45 à 75 ans *(Ye et al., 2011)*. Cette relation avait déjà été établie chez le rat, chez lequel la mémoire spatiale est altérée par la consommation d'un régime riche en fructose (60%) durant 19 semaines *(Ross et al., 2009)*. Le saccharose engendre des résultats similaires puisque des travaux de Jurdak ont montré qu'une supplémentation en saccharose dans l'eau de boisson altérait l'apprentissage et la mémoire spatiale, ainsi que la capacité de reconnaissance des objets chez des jeunes rats *(Jurdak and Kanarek, 2009; Jurdak et al., 2008)*. Ces effets des régimes riches en sucres seraient en grande partie expliqués par l'implication du stress oxydant, des AGEs, de l'inflammation, mais aussi de la résistance à l'insuline dans le déclin cognitif.

En effet, de nombreuses études ont mis en avant le lien entre sensibilité à l'insuline cérébrale et fonction cognitive. Si la résistance à l'insuline induite par un régime riche en fructose est bien connue dans le foie, le muscle et le tissu adipeux, des travaux menés chez les hamsters ont permis de la mettre en évidence également au niveau du système nerveux central *(Mielke et al., 2005)*. Dans ces travaux, un régime 60% fructose a induit un défaut de phosphorylation tyrosine des neurorécepteurs à l'insuline et de leurs substrats (IRS-1), ainsi qu'une moindre phosphorylation de l'Akt cérébrale en réponse à l'insuline, qui pourraient être à l'origine d'une détérioration des fonctions synaptiques. De plus, chez le rat, cette résistance à l'insuline induite par une supplémentation en fructose, a été corrélée à une altération de la mémoire, confirmant l'implication de l'altération du signaling de l'insuline dans la dégradation des fonctions cérébrales *(Agrawal and Gomez-Pinilla, 2012)*. L'inhibition de la kinase Akt entraînerait une déphosphorylation de la « glycogène synthase kinase-3β » (GSK-3β) qui conduit à une hyperphosphorylation de la protéine tau, processus impliqué dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer *(Noble et al., 2005; Schubert et al., 2004)*. De plus, en cas d'hyperglycémie, il se crée une compétition entre le peptide β-amyloïde (βA) et l'insuline, pour l'enzyme de dégradation de l'insuline, entraînant une accumulation de peptide βA, conduisant à

la formation de plaques séniles impliquées dans la maladie d'Alzheimer *(Ho et al., 2004)*. Cette hypothèse est concordante avec l'augmentation des quantités de βA observées au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe de souris nourries avec un régime riche en saccharose *(Carvalho et al., 2012)*.

Malgré son rôle important, l'insulino-résistance ne semble pas responsable à elle seule de l'altération de la fonction cognitive due au fructose puisqu'une étude comparant les effets d'un régime riche en saccharose et riche en graisse a montré que si les deux régimes entraînaient une augmentation de la glycémie à jeun, seul le régime riche en saccharose avait réduit les performances obtenues aux tâches de reconnaissance des objets *(Jurdak and Kanarek, 2009)*. L'inflammation pourrait, elle aussi, médier les effets du fructose sur le déclin cognitif et la neuro-dégénérescence. En effet, l'inflammation induite par un régime riche en sucre est retrouvée au niveau cérébral. C'était notamment le cas dans une récente étude chez le rat, où les concentrations de cytokines pro-inflammatoires IL-1β et IL-6 au niveau de l'hippocampe ont été augmentées suite à la consommation d'HFCS *(Hsu et al., 2015)*. De même, pour le TNF-α, après une consommation de saccharose, dont les niveaux d'ARNm ont été négativement corrélés aux scores de reconnaissance spatiale *(Beilharz et al., 2014)*. Plus généralement, de nombreuses études ont mis en évidence une relation entre inflammation et déclin cognitif chez l'homme, en montrant que les niveaux de certaines protéines pro-inflammatoires, telles que la protéine C réactive (CRP), l'interleukine-1β et l'interleukine-6, sont inversement corrélées aux capacités cognitives *(Engelhart et al., 2004; Teunissen et al., 2003; Weaver et al., 2002; Yaffe et al., 2003)*. De plus, le cerveau dispose de peu de défenses anti-oxydantes, ce qui fait de lui un organe particulièrement sensible au stress oxydant. Or, la présence de ROS a également été associée au développement de maladies neurodégénératives. Elle favoriserait notamment l'agrégation des protéines anormales telles que les protéines tau et βA, α-synucléine et mutant huntingtin protein, impliquées respectivement dans la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, et d'Huntington *(Li et al., 2013)*. Un des mécanismes sous-jacents serait l'activation des kinases JNK et p38 par les ROS, induisant une phosphorylation de la protéine tau, ainsi qu'une activation de l'enzyme responsable du clivage de l'APP *(Coma et al., 2008; Su et al., 2010)*. Les AGEs pouvant également activer la voie JNK, ils représentent eux aussi un lien entre consommation de sucre et maladies neurodégénératives. Une accumulation neuronale de AGEs a d'ailleurs été retrouvée au niveau des plaques séniles et des enchevêtrements neurofibrillaires de patients atteints de la maladie d'Alzheimer *(Smith et al., 1994)* et des corps de Lewy de patients atteints de la maladie de Parkinson *(Castellani et al., 1996)*. De plus, certaines protéines impliquées dans les maladies neurodégénératives peuvent elles-mêmes subir une glycation, qui

favoriserait leur agrégation, c'est le cas du βA, de la protéine tau et l'α-synucléine *(Lüth et al., 2005; Padmaraju et al., 2011; Vitek et al., 1994)*. Les AGEs augmenteraient également la concentration de βA en induisant l'expression de son précurseur l'APP *(Ko et al., 2010)*.

Les principales dérégulations entraînées par une consommation excessive de sucre que sont la diminution de sensibilité à l'insuline, l'augmentation de l'inflammation, du stress oxydant et de la glycation des protéines se manifestent donc également au niveau cérébral, où elles vont participer à l'altération des fonctions cognitives liées à l'âge, particulièrement en favorisant l'agrégation de certaines protéines impliquées dans les maladies neurodégénératives.

3.10. Sarcopénie

Comme cela a été développé dans le premier chapitre de cette étude bibliographique, le muscle est particulièrement touché par le vieillissement, accusant une perte de masse et de fonction. Au vu de la similarité des effets du vieillissement et des régimes riche en sucre, on est en droit de se demander si ce type de régime est capable d'accélérer la sarcopénie. Or, à ce jour, très peu d'auteurs ont étudié l'impact du sucre sur le muscle, et à notre connaissance aucun ne l'a fait au cours du vieillissement. En effet, seule une étude menée chez des rats en croissance a montré qu'un régime riche en saccharose avait réduit la masse du *gastrocnemius* *(Phuwamongkolwiwat et al., 2014)*. Si ces effets se retrouvent chez l'âgé, un tel régime pourrait donc amplifier la perte de masse musculaire liée à l'âge.

C'est donc l'organisme dans son ensemble qui est affecté lors d'un régime riche en sucres ajoutés. En effet, celui-ci entraîne une cascade de dérégulations métaboliques qui se manifestent très rapidement par une augmentation des triglycérides plasmatiques mais également par une résistance à l'insuline, une stéatose hépatique, une hypertension artérielle, une atteinte du SNC... Ces modifications, toutes liées les unes aux autres, semblent en grande partie dues au cercle vicieux impliquant ROS, médiateurs pro-inflammatoires et AGEs, qui représentent d'importants facteurs de risque de mortalité. Par ailleurs, on a pu remarquer que les différents effets induits par l'excès de sucres ajoutés sont très similaires à ceux du vieillissement, et si les conséquences d'un tel régime sont délétères chez l'adulte, on peut imaginer qu'elles le seront d'autant plus chez l'âgé, chez qui la capacité d'adaptation métabolique est réduite. Il paraît donc indispensable de trouver une stratégie permettant de prévenir à la fois les effets du vieillissement et de l'excès de sucre. Parmi les solutions envisageables, la nutrition est celle qui a été choisie dans ce travail. Elle offre en effet de nombreuses possibilités aussi bien pour lutter contre le stress oxydant et l'inflammation, que pour améliorer le profil lipidique et la sensibilité à l'insuline.

CHAPITRE III – INTERET D'UNE SUPPLEMENTATION EN MICRONUTRIMENTS

Les deux chapitres précédents ont mis en avant les différentes altérations induites à la fois par le vieillissement et les régimes riches en sucres, soulignant l'importance de les limiter. Pour cela, les stratégies envisageables sont très variées, allant de l'exercice physique aux traitements hormonaux en passant par la nutrition. Cette dernière est celle qui a retenu notre attention, mais là encore le choix est vaste et de nombreuses stratégies nutritionnelles pourraient se révéler efficaces. Par exemple, les protéines du lactosérum, principalement mises en avant pour leur effets sur la masse musculaire, pourraient permettre d'améliorer la sensibilité à l'insuline *(Blouet et al., 2007; Shertzer et al., 2011)*. Les omégas 3, capables de limiter le déclin cognitif, pourraient également être efficaces pour améliorer la stimulation de la synthèse protéique musculaire et pour augmenter la masse et la force musculaire *(Di Girolamo et al., 2014; X.-W. Zhang et al., 2015)*. Une autre solution serait évidemment de réduire la consommation de sucres, puisque « c'est la dose qui fait le poison ».

Une stratégie nutritionnelle qui semble particulièrement prometteuse dans ce contexte serait de jouer sur le stress oxydant. Comme cela a été vu, il est d'ailleurs difficile d'agir uniquement sur le stress oxydant puisque ce dernier est indissociable de l'inflammation et que ces phénomènes sont fortement liés à la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique non alcoolique, etc,… En 1989, Halliwell et Gutteridge ont défini les antioxydants comme des substances qui, à des concentrations relativement faibles, concurrencent d'autres substrats oxydables et ainsi retardent ou empêchent leur oxydation *(Dröge, 2002)*. L'alimentation est la source d'une grande variété de nutriments possédants des propriétés anti-oxydantes, et notamment de nombreux polyphénols. En plus de leurs propriétés anti-oxydantes, rapidement mises en évidence, les polyphénols semblent capables de réguler l'expression de nombreux gènes, leur permettant d'agir directement sur l'inflammation ou encore le métabolisme lipidique.

Devant l'extrême diversité des molécules possibles, seule la stratégie mise en place au cours de cette étude sera développée dans la suite de ce chapitre. Notre choix s'est porté sur une combinaison de différents micronutriments (rutine, zinc, sélénium, vitamines A, E et D) visant à constituer une supplémentation optimale dans le but de limiter l'apparition de dérégulations métaboliques. L'intérêt de chacun de ces micronutriments sera décrit de manière individuelle.

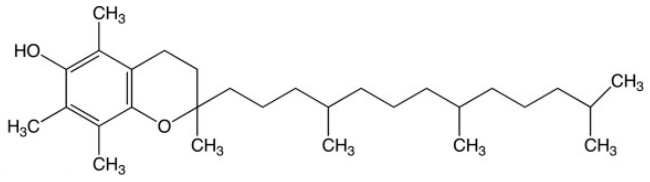


Figure 18 : Formule de l'α-tocophérol

1. VITAMINE E

1.1. Données générales et rôle antioxydant

La vitamine E est une vitamine liposoluble, dont la forme la plus abondante et la mieux absorbée est l'α-tocophérol (**Figure 18**). Les principales sources alimentaires de vitamine E sont les huiles végétales et les céréales non transformées, et sa consommation journalière s'élève à environ 11mg *(European Food Safety Authority, 2006)*.

La vitamine E se lie aux membranes où elle peut neutraliser les radicaux peroxyles et ainsi stopper la réaction de peroxydation lipidique *(van Acker et al., 1993)*. Elle représente donc un puissant antioxydant, capable de limiter le stress oxydant dans des situations multiples *(Rizvi et al., 2014)*. La vitamine E est notamment capable de limiter l'augmentation des TBARS plasmatiques et du GSSG sanguin ainsi que la diminution de l'activité de la SOD induite chez des rats par un régime riche en fructose *(Faure et al., 1997)*.

1.2. Effet sur l'inflammation

Du fait du lien étroit entre stress oxydant et inflammation, de nombreuses molécules anti-oxydantes jouent également un rôle dans la réaction inflammatoire, c'est le cas de la vitamine E. Elle permettrait en effet de limiter l'inflammation, principalement en inhibant la production de PGE2 et de leucotriène par la COX2 et 5-LOX respectivement. La vitamine E serait capable d'inhiber NF-κB, mais également JAK-STAT6/3, autre facteur de transcription impliqué dans l'inflammation *(Jiang, 2014)*. Ces effets anti-inflammatoires démontrés *in vitro* sont également observés *in vivo*. Ainsi, chez la souris, une supplémentation en vitamine E permet de limiter l'augmentation de TNF-α plasmatique induit par un régime high-fat *(Alcalá et al., 2015)*.

1.3. Effet sur le métabolisme glucidique

Une supplémentation en vitamine E permet également d'améliorer la sensibilité à l'insuline chez des rats nourris avec un régime riche en fructose *(Faure et al., 1997)*. Cet effet a aussi été démontré chez des patients diabétiques de type 2 *(Paolisso et al., 1993)*. Cependant, ces données sont à considérer prudemment puisqu'une méta-analyse récente ne montre pas de lien clair entre supplémentation en vitamine E et amélioration de l'homéostasie glucidique *(R. Xu et al., 2014)*.

1.4. Effet sur les altérations liées à l'âge

Chez l'animal, il a été montré qu'une carence en vitamine E altérait l'endurance musculaire et les propriétés contractiles du muscle *(Coombes et al., 2002)*. La vitamine E joue donc un rôle important dans le maintien de la fonction

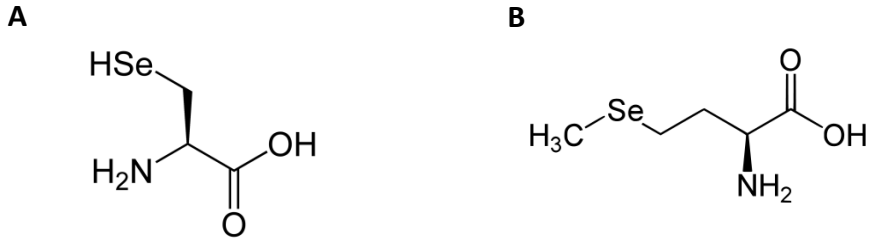


Figure 19 : Formules de la sélénocystéine (A) et de la sélénométhionine (B)

musculaire, principalement par son rôle d'antioxydant, et de ce fait pourrait contribuer à limiter l'apparition de la sarcopénie. Une étude prospective menée chez des personnes âgées a d'ailleurs montré que la consommation journalière de vitamine E était corrélée aux performances physiques et que les concentrations plasmatiques de γ et α-tocophérol étaient corrélées à la force musculaire *(Cesari et al., 2004)*.

Par ailleurs, une autre étude prospective a révélé que des concentrations sériques élevées en vitamine E sont associées à un moindre risque de déficiences cognitives chez des personnes âgées *(Mangialasche et al., 2013)*. En limitant le stress oxydant, la vitamine E serait en effet capable de limiter l'accumulation de peptide βA chez des souris transgéniques *(Conte et al., 2004; Nishida et al., 2009)*. Cependant, à ce jour l'efficacité d'une supplémentation en vitamine E pour limiter le déclin cognitif n'a pas été clairement établi *(Farina et al., 2012)*.

1.5. Autres propriétés métaboliques

La vitamine E pourrait également agir sur la fonction endothéliale puisque les concentrations sériques de vitamine E retrouvées chez les patients hypertendus sont plus faibles que chez les sujets normo-tendus *(Wen et al., 1996)* et qu'une supplémentation en vitamine E améliore la fonction endothéliale *(Joris and Mensink, 2015)*. Cet effet préventif de la vitamine E vis-à-vis de l'hypertension avait été montré chez le rat développant une hypertension spontanée, ou induite par un régime riche en fructose *(Vasdev et al., 2002a, 2002b)*. Une supplémentation en vitamine E permettrait également d'améliorer la fonction hépatique chez des sujets atteints de SHNA, principalement mis en évidence par une diminution des concentrations d'aspartate aminotransférase (AST) et d'alanine aminotransférase (ALT) plasmatiques (marqueurs d'atteinte hépatique) *(Ji et al., 2014; Sato et al., 2015)*.

En limitant le stress oxydant, la vitamine E développe donc plusieurs propriétés qui font d'elle une molécule intéressante en vue de limiter les effets délétères du sucre et du vieillissement.

2. SELENIUM

2.1. Données générales et rôle antioxydant

Le sélénium est un oligoélément essentiel que l'on trouve dans les produits d'origine animale et végétale, associé à des protéines sous forme de sélénocystéine et sélénométhionine (**Figure 19**). En France, la consommation moyenne est comprise entre 29 et 43 µg/jour *(European Food Safety Authority, 2006)*. Il possède un fort pouvoir antioxydant en tant que constituant des séléno-protéines et en particulier de la glutathion peroxydase *(Moghadaszadeh and Beggs, 2006)*. Ainsi, une

supplémentation en sélénium augmente l'activité de la GPx et limite la peroxydation lipidique *(Kim et al., 2012; Y. Kim et al., 2014)*.

2.2. Effet sur l'inflammation

Des concentrations sériques réduites en sélénium seraient corrélées à une augmentation de la production de CRP par le foie *(Maehira et al., 2002)*. L'IL-6 stimulant la production de CRP, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Shilo et ses collaborateurs qui ont montré que le sélénium inhibe la production hépatique d'IL-6 induite par une injection de lipopolysaccharide (LPS) *(Shilo et al., 2008)*. La régulation de la production de cytokines pro-inflammatoires par le sélénium passe, au moins en partie, par sa capacité à inhiber l'activation de NF-κB *(Y. Kim et al., 2014; Maehira et al., 2003)*. Mais le sélénium pourrait également inhiber la production de NO et de PGE2, en bloquant l'activation de la p38 MAPK par l'IL-1β *(Cheng et al., 2011)*.

2.3. Effet sur le métabolisme glucidique

Le sélénium a également un effet indéniable sur le métabolisme glucidique, cependant cet effet est discuté puisque, selon la dose, il serait tantôt bénéfique, tantôt délétère. En effet, à des doses nutritionnelles, la concentration de sélénium dans les ongles est inversement corrélée au risque de diabète de type II *(Park et al., 2012)*. Le sélénium serait capable d'améliorer l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose, telle que la glucose 6 phosphate, et d'augmenter le captage du glucose par le foie chez des rats diabétiques *(Chen et al., 2015)*. En revanche, à haute dose, les concentrations sériques en sélénium sont associées à la prévalence du diabète de type 2 *(Bleys et al., 2007)* et le sélénium pourrait induire une insulino-résistance hépatique due à une dérégulation de la production de ROS *(Wang et al., 2014)*.

2.4. Effet sur les altérations liées à l'âge

Il a été montré que les concentrations sériques de sélénium diminuent avec l'âge et qu'elles sont plus faibles chez les personnes âgées fragiles *(Bates et al., 2002)*. Ces observations ont encouragé les scientifiques à étudier l'impact du sélénium sur différentes fonctions touchées par le vieillissement.

Tout d'abord, le sélénium pourrait jouer un rôle dans le maintien de la fonction musculaire au cours du vieillissement puisque chez des personnes âgées, la concentration sérique en sélénium a été corrélée à la force musculaire *(Beck et al., 2007; Lauretani et al., 2007)* et à la vitesse de marche *(Alipanah et al., 2009)*.

Par ailleurs, le sélénium participe au maintien des fonctions cérébrales, et chez les personnes âgées une faible concentration sérique de sélénium est un facteur de risque de déclin cognitif *(Akbaraly et al., 2007; Berr et al., 2012)*.

2.5. Autres propriétés métaboliques

Le sélénium exerce d'autres effets bénéfiques, conséquences directes de son effet antioxydant et anti-inflammatoire. Par exemple, il pourrait avoir un rôle hépato-protecteur puisqu'il prévient l'augmentation de l'ALT plasmatique induite par une injection de LPS *(Shilo et al., 2008)*. Dans une moindre mesure, une supplémentation en sélénium pourrait également améliorer le profil lipidique plasmatique, mais ces effets sont très discutés *(Rayman et al., 2011)*.

Le sélénium doit donc être apporté en quantité suffisante afin d'assurer un fonctionnement optimal et une supplémentation paraît particulièrement adaptée chez les personnes âgées plus fréquemment carencées. Cependant, la supplémentation en sélénium doit être faite avec précaution puisqu'à des doses supra-nutritionnelles le sélénium devient toxique, stimule la production de ROS et augmente notamment le risque de diabète de type 2 *(Rayman, 2012; Wang et al., 2014)*.

3. ZINC

3.1. Données générales et rôle antioxydant

Dans l'alimentation, le zinc est apporté sous forme de sels tels que le chlorure de zinc, le citrate de zinc ou encore le sulfate de zinc et est essentiellement présent dans la viande rouge. La consommation moyenne est de 13 mg/jour chez les hommes et 9 chez les femmes.

Le zinc participe à la régulation de l'équilibre redox de manière plus ou moins directe à travers différents mécanismes. Premièrement, le zinc agit en tant que cofacteur des SOD cytosolique et extracellulaire. Ainsi une supplémentation en zinc chez des rats diabétiques permet d'augmenter l'activité de la SOD et de réduire les concentrations sériques et pancréatiques de MDA *(Zhu et al., 2013)*. Le zinc agit également sur le métabolisme du glutathion *(Omata et al., 2013)* et une supplémentation en zinc permet de prévenir la diminution du GSH et l'augmentation de la peroxydation lipidique dans les reins de rats traités à la streptozotocine *(Karatug et al., 2013)*. De plus, elle augmente également l'activité de la GPx pancréatique *(Zhu et al., 2013)*. Mais le zinc peut également limiter les dommages oxydatifs en entrant en compétition avec le fer et le cuivre qui, lorsqu'ils se lient aux membranes, favorisent la peroxydation lipidique *(Zago and Oteiza, 2001)* ; ou encore en régulant l'activation des NADPH oxydases, productrices de ROS *(Aimo et al., 2010)*. D'autres mécanismes d'action du zinc sur l'homéostasie redox, tels que

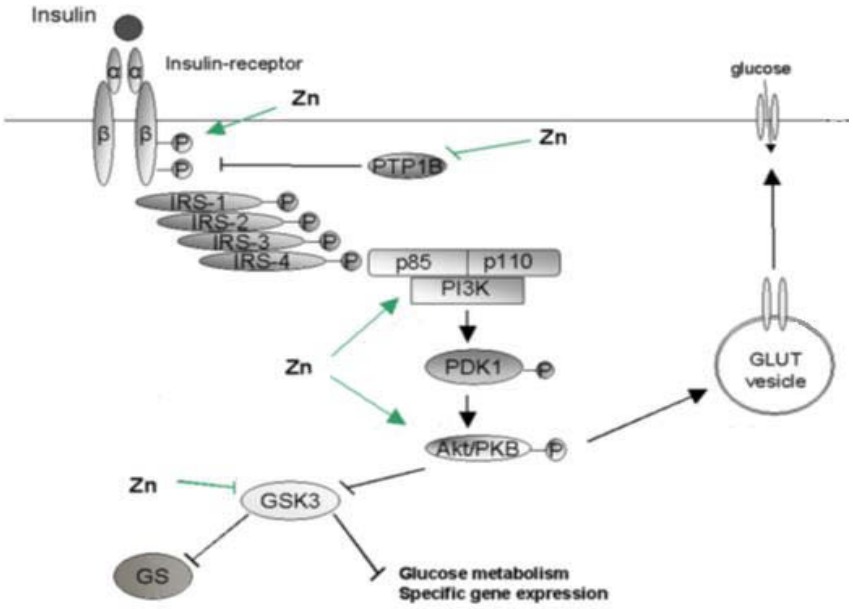


Figure 20 : Influence du zinc sur la voie de signalisation de l'insuline (Adapté de *Jansen et al., 2009*).
L'activation d'Akt par le zinc pourrait être due à une stimulation de la PI3K plutôt qu'à une action directe du zinc sur Akt. Le zinc est capable d'entraîner une phosphorylation tyrosine du récepteur à l'insuline mais également une inhibition de la protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) responsable de la déphosphorylation du récepteur à l'insuline. Le zinc pourrait également, comme l'insuline, inhiber directement GSK-3. GLUT : transporteur de glucose ; GS : glycogène synthase ; GSK3 : glycogène synthase kinase ; IRS : substrat du récepteur à l'insuline PDK : phosphoinositide-dependent protein kinase 1 ; PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase ; PKB : protein kinase B.

l'interaction avec les groupements thiols ou la régulation de la voie des MAPK sont détaillés dans une revue de Oteiza *(Oteiza, 2012)*.

3.2. Effet sur le métabolisme glucidique

Le zinc a été très étudié dans le cadre du diabète puisqu'il est indispensable à la synthèse, à la sécrétion et au signaling de l'insuline. En effet, le zinc fait partie intégrante de la structure de l'insuline, permet de la stabiliser, la protège contre les dommages oxydatifs et régule l'ouverture des canaux potassiques responsables de sa sécrétion ainsi que la voie PI3K/Akt *(Jansen et al., 2009; Taylor, 2005)* (**Figure 20**). La majorité des patients diabétiques sont d'ailleurs carencés en zinc *(Al-Maroof and Al-Sharbatti, 2006; Saharia and Goswami, 2013)* et de nombreuses études ont montré qu'une supplémentation permet d'améliorer le contrôle de la glycémie *(Capdor et al., 2013)*.

3.3. Effet sur le métabolisme lipidique

Chez des patients diabétiques de type 2, la supplémentation en zinc permet d'améliorer le profil lipidique plasmatique puisqu'elle entraîne une diminution du cholestérol total, du LDL-cholestérol et des triglycérides ainsi qu'une augmentation du HDL-cholestérol *(Afkhami - Ardekani et al., 2008; Partida-Hernández et al., 2006)*.

3.4. Effet sur les altérations liées à l'âge

Quels que soient les mécanismes mis en jeu, le zinc représente donc un micronutriment essentiel à l'équilibre général de l'organisme et une supplémentation pourrait se révéler particulièrement intéressante pour les personnes âgées, chez lesquelles les concentrations sériques en zinc sont diminuées *(Savarino et al., 2001)*. Sachant que le zinc est indispensable au fonctionnement cérébral et notamment à la transmission synaptique, cette diminution amène à s'interroger sur l'implication du zinc dans les altérations liées à l'âge et en particulier les maladies neurodégénératives. Ainsi, une étude récente a montré que le statut en zinc était corrélé aux performances cognitives chez les personnes âgées *(Markiewicz-Żukowska et al., 2015)* et des apports inadaptés en zinc peuvent participer à l'apparition de pathologies touchant le SNC telle que la maladie d'Alzheimer *(Tyszka-Czochara et al., 2014)*.

Un apport adapté en zinc parait donc essentiel pour maintenir le bon fonctionnement de l'organisme, en particulier au cours du vieillissement où dans le cas d'une résistance à l'insuline.

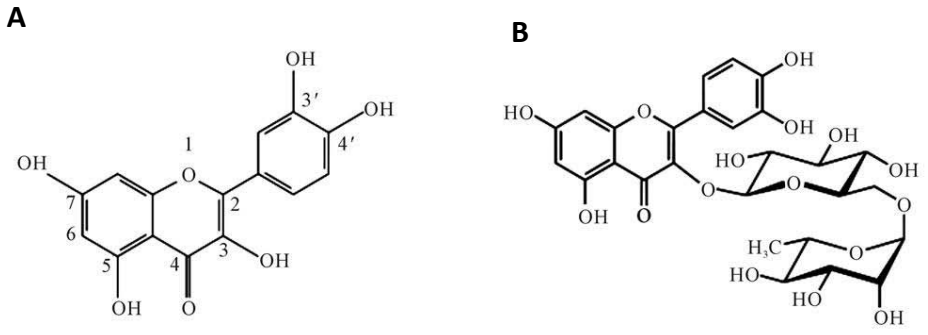


Figure 21 : Formules de la quercétine (A) et de la rutine (B)

4. RUTINE

4.1. Données générales et rôle antioxydant

Les polyphénols sont des molécules issues du métabolisme secondaire des végétaux caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, modifiés ou non. Il en existe un très grand nombre et leur structure peut être très variable, allant de molécules simples comme les acides phénoliques, aux tanins, hautement polymérisés. En France, la consommation moyenne totale de polyphénols est d'un peu plus de 1g/jour, principalement issus des boissons non alcoolisées et des fruits *(Pérez-Jiménez et al., 2011)*. Les polyphénols sont répartis en deux grandes familles : les flavonoïdes et les non flavonoïdes. Les flavonoïdes, sont eux-mêmes divisés en plusieurs sous-groupes : les flavanols, les flavanones, les flavonols, les anthocyanes, les flavones et les isoflavones. La quercétine est le flavonol le plus consommé (~20mg/jour) et est particulièrement présente dans l'oignon et la pomme. De nombreuses études se sont donc intéressées à la quercétine et ses dérivés, parmi lesquels on retrouve la rutine, diglycoside de la quercétine (quercétine-3-rutinoside) (**Figure 21**). Suite à son absorption intestinale, la rutine est métabolisée en quercétine, et en différents acides phényle-acétiques et isorhamnétine *(Olthof et al., 2003)*. Bien que ces derniers possèdent des propriétés anti-oxydantes *(Pietta et al., 2000; Yang et al., 2014)*, la quercétine reste la molécule la plus active, et l'essentiel des travaux évoqués par la suite la concerneront donc.

Les propriétés anti-oxydantes de la quercétine ont été largement démontrées *in vitro* par une capacité à neutraliser efficacement les radicaux libres et à inhiber leur production *(Boots et al., 2008)*, mais aussi à activer la voie Nrf2 *(Shi et al., 2013)*. Ces effets sont retrouvés *in vivo*, où il a été montré que la quercétine augmente la capacité anti-oxydante plasmatique totale *(Wilms et al., 2005)*, diminue la production de ROS *(Chobot et al., 2014)* et augmente l'activité de certaines enzymes anti-oxydantes *(Liu et al., 2015; Tabaczar et al., 2013)*.

4.2. Effet sur l'inflammation

Comme beaucoup de polyphénols, la quercétine est aussi capable de limiter l'inflammation en inhibant la voie NF-κB *(Shi et al., 2013)* et donc en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et le TNF-α) et de CRP *(Mahmoud et al., 2013; Niture et al., 2014)*.

4.3. Effet sur le métabolisme glucidique

L'effet protecteur contre la résistance à l'insuline a lui été montré chez des rats nourris avec un régime riche en fructose pour la rutine *(Lee et al., 2012)* et riche en gras et saccharose pour la quercétine *(Arias et al., 2014)*. Plusieurs hypothèses ont été

émises pour expliquer les mécanismes mis en jeu, les flavonoïdes pourraient en effet améliorer le métabolisme glucidique en protégeant les îlots pancréatiques contre le stress oxydant *(Babujanarthanam et al., 2010; Prince and Kamalakkannan, 2006)*, en inhibant l'activité des glucosidases intestinales *(Kim et al., 2011)*, en réduisant l'absorption intestinale du glucose dépendante de GLUT2 *(Kwon et al., 2007)* ou encore en agissant sur les transporteurs de glucose musculaires GLUT4 *(Anhê et al., 2012; Hsu et al., 2014)*.

4.4. Effet sur le métabolisme lipidique

La quercétine pourrait également agir sur le métabolisme lipidique. Ainsi, une supplémentation en quercétine permet de réduire la concentration plasmatique de triglycérides et de cholestérol total et d'augmenter celle de HDL-cholestérol chez des souris diabétiques (db/db) *(Jeong et al., 2012)*. Elle permet aussi de limiter l'accumulation de lipides totaux et triglycérides au niveau hépatique, tout comme la rutine *(Jung et al., 2013; Sikder et al., 2014)*. Cette modulation du profil lipidique pourrait passer par une inhibition de l'expression de certaines enzymes de la lipogenèse (en particulier FAS) *(Jung et al., 2013)*, une augmentation de l'expression de SREBP-2 (facteur de transcription impliqué dans le métabolisme du cholestérol) *(Sikder et al., 2014)*, ou encore une amélioration de l'efflux du cholestérol au niveau des macrophages *(Chang et al., 2012)*. De plus, ces effets sur le métabolisme lipidique peuvent se répercuter sur le poids, ce qui a poussé certains auteurs à considérer la quercétine comme une molécule anti-obésogène *(Hoek-van den Hil et al., 2015; Moon et al., 2013)*. Cependant cet effet est plus controversé et pourrait n'être observé qu'à concentrations relativement élevées de quercétine *(Rivera et al., 2008)*.

La quercétine et la rutine sont donc capables de limiter la plupart des manifestations du syndrome métabolique induites par un régime riche en sucre et en gras telles que la stéatose hépatique et l'intolérance au glucose comme cela a été montré chez le rat *(Panchal et al., 2012, 2011)*. Mais elles pourraient également être efficaces contre les effets du vieillissement.

4.5. Effet sur les altérations liées à l'âge

En effet, la quercétine exerce également ses fonctions au niveau cérébral puisqu'il a été montré qu'une supplémentation en quercétine permettait de limiter les enchevêtrements neurofibrillaires et les dépôts de βA, améliorant ainsi les fonctions cognitives chez des souris âgées, modifiées génétiquement pour développer la maladie d'Alzheimer *(Sabogal-Guáqueta et al., 2015)*. Dans un autre modèle de souris transgéniques, la rutine développe des effets similaires puisqu'elle permet d'améliorer la mémoire spatiale, et ce par une diminution de la quantité

d'oligomères de βA, de la concentration d'IL-6 et d'IL-1β, et une augmentation du ratio GSH/GSSG et de l'activité de la SOD *(P. Xu et al., 2014)*.

4.6. Autres propriétés métaboliques

La quercétine aurait une action anti-hypertensive qui a été rapportée chez le rat dans le cadre d'un régime riche en sucre et en gras *(Yamamoto and Oue, 2006)*, mais également dans d'autres modèles d'hypertension, induite ou spontanée *(Perez-Vizcaino et al., 2009)*, ainsi que chez des sujets hypertendus *(Edwards et al., 2007)*. Dans une revue, Larson a proposé plusieurs mécanismes pour expliquer cet effet, dont une interaction avec le système rénine-angiotensine-aldostérone ou une amélioration de la fonction vasculaire de manière dépendante ou non de l'endothélium *(Larson et al., 2012)*.

La quercétine a également démontré des effets hépato-protecteurs chez le rat, en limitant l'augmentation des taux sériques d'AST et d'ALT induite par un traitement à la streptozotocine *(Fernandes et al., 2010)* ou par une consommation d'éthanol et d'un régime hypercalorique *(Chuffa et al., 2014)*.

Au niveau musculaire, il a été montré qu'en prévenant l'augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires induite par un régime riche en gras chez la souris, la quercétine réduisait également l'expression de Murf1 et de l'atrogin1 et limitait ainsi la réduction de la masse musculaire et de la taille des fibres du *gastrocnemius* *(Le et al., 2014)*.

Enfin, la quercétine et les métabolites de la rutine inhibent la formation de AGEs, *in vitro* *(Alam et al., 2015; Ashraf et al., 2015; Pashikanti et al., 2010)* et *in vivo* *(Nagasawa et al., 2002)*.

Ainsi, la quercétine et la rutine sont capables de prévenir l'ensemble des altérations métaboliques induites par un régime riche en sucre mais également par le vieillissement, aussi bien au niveau musculaire, hépatique que cérébral. De plus, leurs propriétés dépassent largement leurs rôles d'antioxydants, puisque les polyphénols semblent capables de réguler l'expression de certains gènes. C'est également le cas de deux autres micronutriments utilisés dans cette étude, à commencer par la vitamine A.

5. VITAMINE A

5.1. Données générales

La vitamine A est une vitamine liposoluble apportée par les produits d'origine animale sous forme de rétinol, ou bien par les fruits et légumes sous forme de caroténoïdes, précurseurs du rétinol (principalement le β-carotène). Le rétinol, stocké

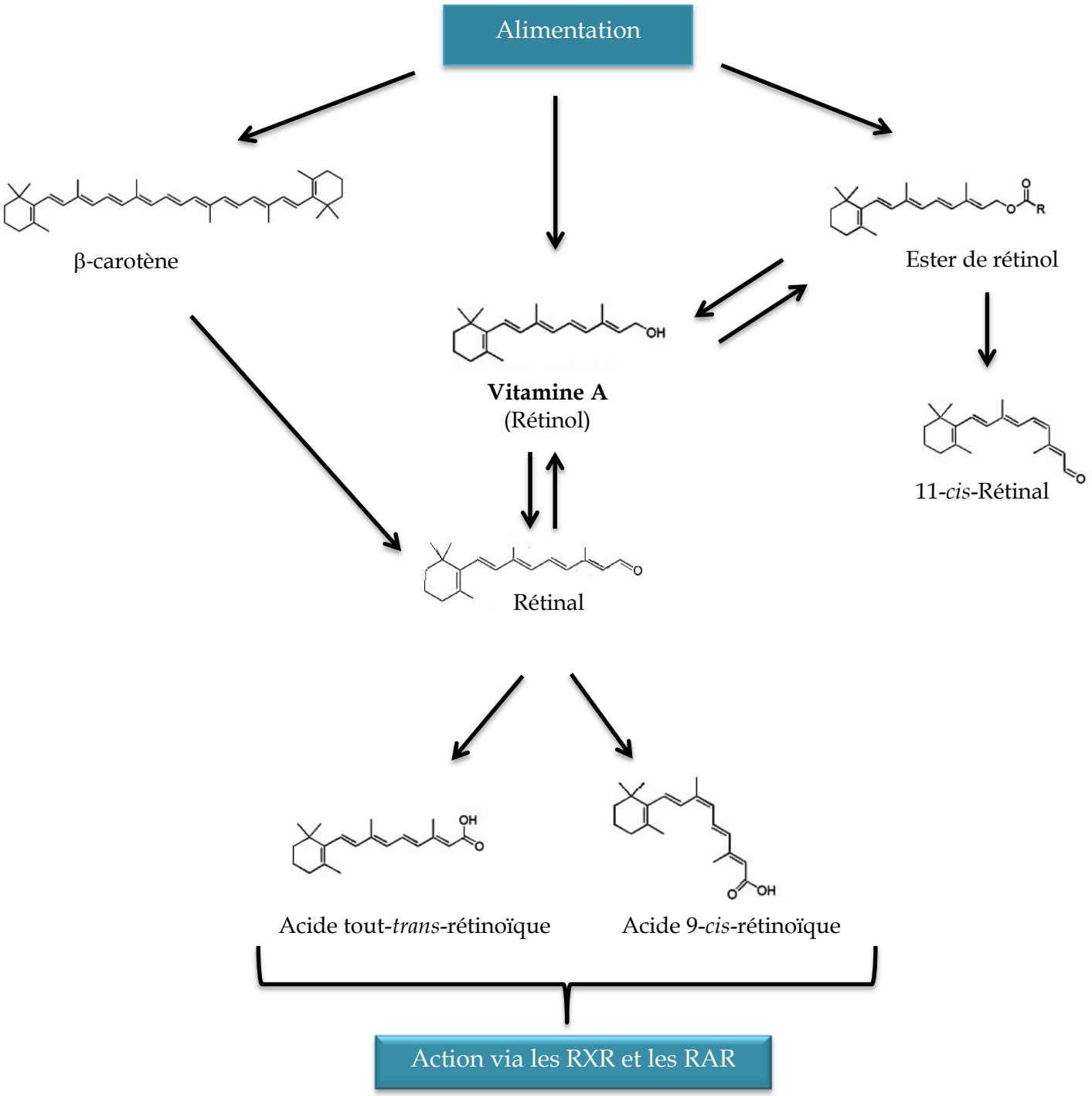


Figure 22 : Métabolisme de la vitamine A
RAR : récepteur de l'acide rétinoïque ; RXR : récepteur X des rétinoïdes

dans le foie, peut alors être converti en rétinal puis acide rétinoïque (**Figure 22**). Ce dernier participe à la régulation de plus de 500 gènes en se liant aux récepteurs nucléaires RAR (retinoic acid receptors) et RXR (retinoid X receptors) qui peuvent former des hétérodimères en s'associant à d'autres récepteurs nucléaires, et notamment aux peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) et au récepteur à la vitamine D (VDR) *(Frey and Vogel, 2011)*.

5.2. Effet sur le métabolisme glucidique

Une supplémentation en acide rétinoïque chez des souris nourries avec un régime riche en sucre et en lipides permet d'améliorer la sensibilité à l'insuline en activant les RAR et les PPARβ/δ *(Berry and Noy, 2009)*. Cet effet sur la sensibilité à l'insuline implique d'une part l'amélioration du signaling de l'insuline par une stimulation de la voie PI3k/Akt *via* les RAR *(Masiá et al., 2007)*, et d'autre part une augmentation de la sécrétion d'insuline résultant de la stimulation de l'activité de la glucokinase des cellules β du pancréas *(Cabrera-Valladares et al., 1999)*. L'acide rétinoïque pourrait également augmenter le captage du glucose par les cellules musculaires en stimulant la voie AMPK/p38 *(Lee et al., 2008)*.

5.3. Effet sur le métabolisme lipidique

De par son action sur les PPARγ, l'acide rétinoïque est un important régulateur de l'adipogenèse qui intervient très tôt dans le processus de différenciation de l'adipocyte *(Xue et al., 1996)*. Une supplémentation en vitamine A permet ainsi de limiter la prise de poids chez des animaux obèses *(Berry and Noy, 2009; Felipe et al., 2004; Jeyakumar et al., 2008)*.

Les RXR peuvent également former un hétérodimère avec les LXR (liver X receptor), impliqués dans l'homéostasie du cholestérol. L'acide rétinoïque est de ce fait capable d'augmenter l'efflux de cholestérol comme cela a été montré *in vitro* au niveau de cellules intestinales et de macrophages *(Manna et al., n.d.; Murthy et al., 2002)*, et ainsi de participer à la régulation du HDL-cholestérol plasmatique *(Jeyakumar et al., 2007)*.

5.4. Effet sur les altérations liées à l'âge

L'acide rétinoïque a également été très étudié pour son potentiel neuroprotecteur du fait de l'importante expression des RAR et RXR au niveau cérébral. La perte de neurones liée à l'âge, le déclin cognitif, voire l'apparition de certaines maladies neurodégénératives pourraient être en partie dus à une altération des voies de signalisation dépendantes de l'acide rétinoïque qui apparait en cas de carence en vitamine A *(Sodhi and Singh, 2014)*. Cette altération entraîne notamment une accumulation de peptide βA *(Corcoran et al., 2004)*, et à l'inverse, une

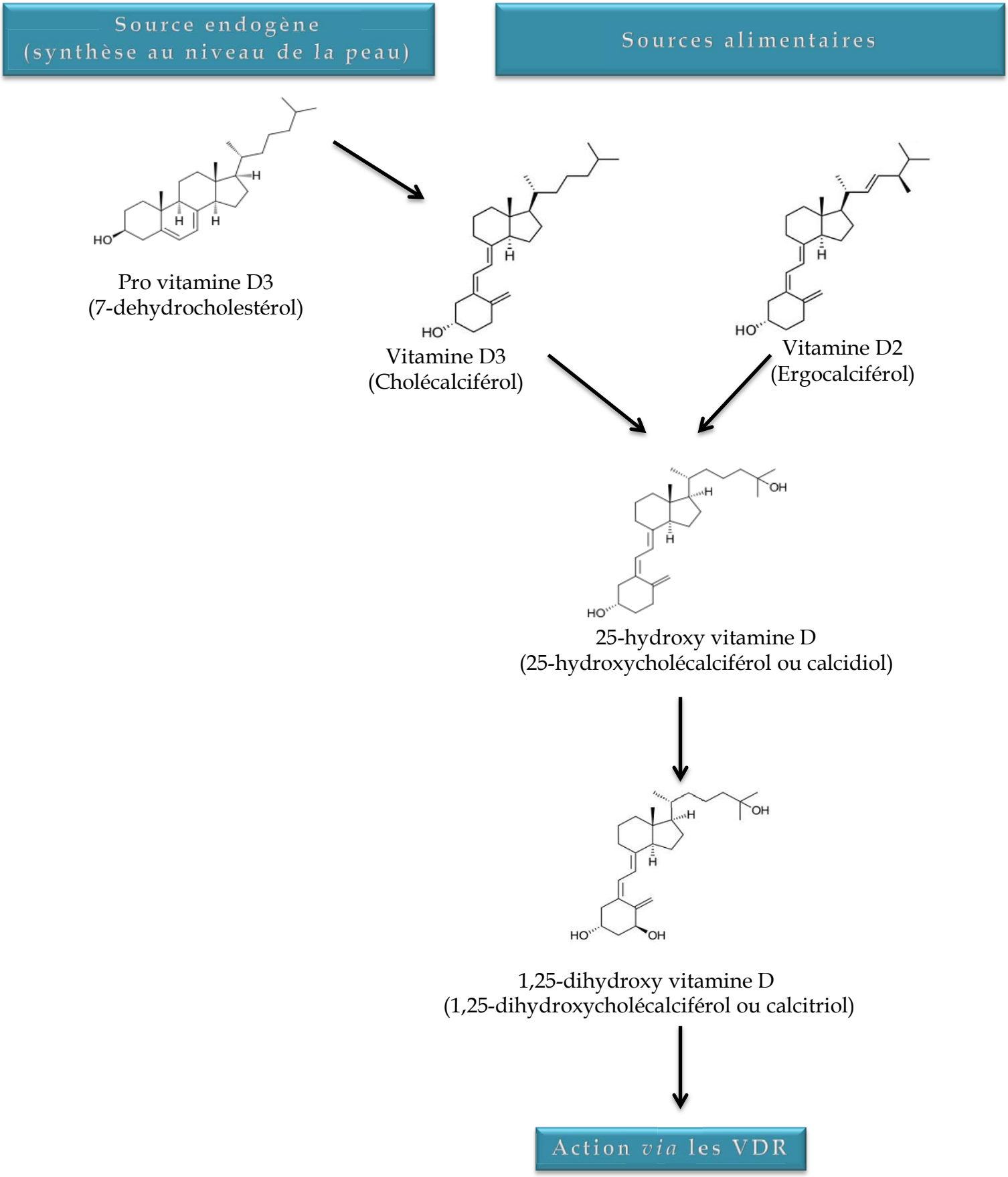


Figure 23 : Métabolisme de la vitamine D
VDR : récepteur de la vitamine D

supplémentation en acide rétinoïque atténue l'accumulation de βA et l'hyperphosphorylation de la protéine tau, améliorant ainsi les performances cognitives chez des souris *(Ding et al., 2008)*.

L'acide rétinoïque se révèle donc être un important régulateur du métabolisme lipidique et glucidique, avec de surcroît une action au niveau cérébral.

6. VITAMINE D

6.1. Données générales

La vitamine D est à la fois apportée par l'alimentation et synthétisée par la peau, sous l'action des ultraviolets. Les besoins en vitamine D sont donc dépendants du taux d'exposition au soleil et pourraient être insuffisants dans une grande partie de la population. C'est particulièrement le cas chez les personnes âgées, pour lesquelles il serait recommandé de consommer environ 10 µg de vitamine D par jour, alors que la consommation moyenne en Europe se situe entre 3 et 4 µg/jour *(European Food Safety Authority, 2006)*. Dans l'alimentation, elle est apportée sous forme de vitamine D2 ou vitamine D3 qui sont ensuite métabolisées en 25-hydroxyvitamine D au niveau du foie puis en 1,25-dihydroxyvitamine D (forme active) au niveau des reins (**Figure 23**). La principale fonction de la vitamine D est de faciliter l'absorption du calcium, mais *via* les facteurs de transcription VDR auxquels se lie la 1,25-dihydroxyvitamine D, elle peut intervenir dans la régulation de nombreux autres gènes.

6.2. Effet sur le métabolisme glucidique

Une carence en vitamine D augmenterait le risque de diabète de type 2 *(Pittas et al., 2006; Scragg et al., 2004)*. Cependant, à ce jour, l'effet bénéfique d'une supplémentation en vitamine D sur la sensibilité à l'insuline et le contrôle de la glycémie n'a pas été établi de manière claire et les résultats des études d'interventions restent assez contradictoires *(Al-Sofiani et al., 2015; Kampmann et al., 2014; Nagpal et al., 2009; Yousefi Rad et al., 2014)*. Toutefois, la vitamine D joue un rôle important dans l'homéostasie glucidique puisqu'elle serait nécessaire à l'activité des cellules β-pancréatiques et qu'une supplémentation en vitamine D permettrait d'augmenter la sécrétion d'insuline *(Al-Sofiani et al., 2015; Alvarez and Ashraf, 2010; Gedik and Akahn, 1986)*.

6.3. Effet sur les altérations liées à l'âge

Le statut en vitamine D ayant été associé à la masse et à la fonction musculaire chez les personnes âgées (voir Chapitre I – paragraphe 3.6.1, p.21), de nombreuses études interventionnelles ont testé l'efficacité d'une supplémentation en vitamine D pour limiter la sarcopénie. La diversité des protocoles (dose et source de vitamine D,

population étudiée, durée de l'intervention,…) explique que les résultats de ces études restent assez variables et controversés *(Lewis and Laing, 2015)*. En effet, certaines études ne rapportent aucun effet d'une supplémentation en vitamine D sur les performances physiques *(Kenny et al., 2003; Latham et al., 2003)*, ni sur la masse musculaire *(Verschueren et al., 2011)* chez les personnes âgées. Cependant, une méta-analyse réalisée par Luir et Montero-Odasso démontre globalement des effets bénéfiques d'une supplémentation en vitamine D à une dose comprise entre 800 et 1000 UI par jour sur la force musculaire des personnes âgées *(Muir and Montero-Odasso, 2011)*. Une récente étude a également montré qu'une supplémentation de 1000 UI/jour permettait de limiter la perte de masse musculaire due à l'âge chez des femmes ménopausées âgées de 50 à 65 ans *(Cangussu et al., 2015)*.

Des faibles concentrations sériques de vitamine D sont également prédictives du déclin cognitif chez les personnes âgées *(Llewellyn et al., 2010; Toffanello et al., 2014)*. Chez le rat âgé, plusieurs études ont montré qu'une supplémentation en vitamine D permet d'améliorer les performances cognitives *(Briones and Darwish, 2012; Latimer et al., 2014)*, notamment en limitant l'hyperphosphorylation de la protéine tau *(Briones and Darwish, 2014)*.

6.4. Autres propriétés métaboliques

Ces effets de la vitamine D sur la masse musculaire et la cognition pourraient être en partie médiés par des propriétés anti-inflammatoires que lui prêtent de plus en plus d'études. En effet, une supplémentation en vitamine D pourrait inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires *(Schleithoff et al., 2006; Zhang et al., 2012)* et une corrélation inverse a été établie entre les concentrations de vitamine D dans le sérum et celles de CRP *(Amer and Qayyum, 2012; Bellia et al., 2011)*. Par ailleurs, chez des hommes adultes et des femmes ménopausées, les concentrations sériques de vitamine D seraient inversement corrélées à l'apparition de SHNA *(Hao et al., 2014; Lu et al., 2015)*. Ces observations sont en accord avec des résultats obtenus chez le rat en croissance chez lequel une carence en vitamine D a accentué la SHNA induite par un régime riche en sucre et en gras, et a entraîné une résistance à l'insuline, ainsi qu'une inflammation et un stress oxydant hépatique *(Roth et al., 2012)*.

Si les effets bénéfiques d'une supplémentation en vitamine D ont surtout été montrés dans le cas de faibles concentrations sériques en vitamine D, voire de carence, elle pourrait être particulièrement intéressante dans le cadre d'un régime riche en fructose, puisque ce type de régime réduirait les concentrations sériques de vitamine D chez des rats adultes *(Douard et al., 2014)*.

Une supplémentation en vitamine D semble donc particulièrement adaptée au maintien d'un vieillissement sain et pourrait se révéler d'autant plus intéressante chez les personnes ayant une consommation élevée de sucres ajoutés.

7. ASSOCIATIONS DE MICRONUTRIMENTS

Tous ces micronutriments ont donc de nombreux effets bénéfiques, qui peuvent se révéler complémentaires. Plusieurs auteurs ont notamment suggéré qu'il pourrait y avoir une synergie entre sélénium et vitamine E, en particulier vis-à-vis du stress oxydant, mais aussi de l'immunité et de la toxicité du peptide βA *(El-Shenawy et al., 2015; Harsini et al., 2012; Xiong et al., 2007)*. Le mélange vitamine E/zinc permet également d'améliorer la capacité du zinc à augmenter le ratio GSH/GSSG *(Faure et al., 2007)*. La supplémentation avec une association de zinc, sélénium et vitamine E s'est révélée être plus efficace qu'une supplémentation de zinc seul ou de vitamine E et sélénium sur le contrôle du stress oxydant et de la glycémie chez des rats diabétiques (traités à la streptozotocine) *(Aly and Mantawy, 2012)*. Un mélange de rutine, zinc, sélénium, vitamine A et vitamine E a, lui, permis de restaurer la stimulation de la synthèse protéique musculaire par la leucine chez des rats âgés *(Marzani et al., 2008)*.

La rutine, le zinc, le sélénium, ainsi que les vitamines A, E et D semblent donc posséder les propriétés adéquates pour contrebalancer les effets délétères connus d'un régime riche en sucres ajoutés. À des échelles plus ou moins importantes, ces micronutriments sont capables de réduire le stress oxydant, l'inflammation, et l'hypertension, mais aussi d'améliorer la sensibilité à l'insuline, de maintenir les fonctions cérébrales, de limiter l'apparition de dyslipidémie et de stéatose hépatique non alcoolique, ou encore pour certains, d'éviter certaines altérations du métabolisme musculaire observé au cours du vieillissement. Associer ces différents micronutriments devrait donc permettre de cumuler leurs propriétés bénéfiques, mais aussi d'exploiter d'éventuelles synergies.

CONCLUSION DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Le vieillissement et la consommation d'un régime riche en sucre ont donc de nombreuses conséquences communes. L'un comme l'autre s'accompagne en effet d'une augmentation du stress oxydant, de l'inflammation et de la glycation des protéines et représente un facteur de risque de résistance à l'insuline, de stéatose hépatique non alcoolique et de déclin cognitif. La consommation de sucre pourrait donc amplifier les effets du vieillissement normal et accélérer l'apparition des altérations qu'il induit, en particulier la sarcopénie. En effet, la perte de masse et de fonction musculaire liée à l'âge est une conséquence particulièrement importante du vieillissement puisqu'elle touche toutes les personnes âgées et va impacter considérablement leur vie quotidienne, jusqu'à augmenter leur risque de mortalité. La sarcopénie est en partie due à une altération du métabolisme protéique musculaire et notamment à un défaut d'anabolisme postprandial qui semble dépendant du stress oxydant, de la sensibilité à l'insuline et de l'inflammation. Tous ces facteurs pouvant être induits par un régime riche en sucres ajoutés, on peut supposer que ce type de régime pourrait accélérer la sarcopénie. Pourtant, à ce jour, aucune étude ne s'est intéressée spécifiquement à ce sujet.

En outre, s'il existe un grand nombre d'études traitant des effets d'un régime riche en sucre, tout particulièrement au niveau hépatique, très peu ont été réalisées chez l'âgé. Les risques d'une consommation excessive de sucre ne sont donc pas connus chez le sujet âgé, alors même que celle-ci pourrait agir comme un accélérateur du vieillissement.

Enfin, nous avons décrit la capacité de la rutine, du zinc, du sélénium et des vitamines A, E et D à réduire le stress oxydant et l'inflammation mais aussi à maintenir un équilibre glucidique et lipidique. Ces propriétés font d'eux des micronutriments a priori à même de lutter contre les effets délétères d'un régime riche en sucres ajoutés. De plus, ce mélange de micronutriments s'est déjà révélé efficace pour limiter les effets du vieillissement sur le métabolisme protéique musculaire. La combinaison de ces micronutriments apparaît donc comme une stratégie nutritionnelle judicieuse pour pallier aux effets combinés du vieillissement et de l'apport excessif de sucre. Cependant, on ne connait pas l'évolution des effets bénéfiques décrits avec l'âge, ni la capacité de ce mélange à prévenir les effets délétères d'un régime riche en sucre chez un sujet âgé.

TRAVAIL EXPERIMENTAL

OBJECTIFS

Le premier objectif de cette thèse a été de déterminer si la consommation d'un régime riche en sucres ajoutés pouvait altérer la synthèse protéique musculaire postprandiale et accélérer la perte de masse musculaire chez des rats âgés. Les effets combinés du vieillissement et des sucres ajoutés étant méconnus, cette thèse a également été l'occasion de s'intéresser à d'autres tissus : le foie, organe clé du métabolisme du fructose, et le cerveau, particulièrement sensible au vieillissement. Si le métabolisme protéique était notre principale cible d'intérêt, au vu de la littérature, il paraissait important d'évaluer les conséquences de ce régime sur le métabolisme lipidique et glucidique. Nous voulions également savoir si les éventuelles altérations métaboliques induites étaient médiées par une augmentation du stress oxydant, de l'inflammation et de la glycation des protéines. Dans le but d'être le plus représentatif possible de la consommation humaine, et sachant qu'en France la majorité du fructose est apporté sous forme de saccharose, c'est sous cette forme qu'il a été administré dans cette étude. En effet, comme cela a été décrit, les effets du fructose diffèrent selon si celui-ci est apporté seul ou conjointement avec du glucose, or dans l'alimentation il est très largement co-ingéré avec du glucose. Il nous a donc semblé plus judicieux de respecter ces apports afin de ne pas biaiser les effets engendrés.

Le deuxième objectif de ce travail était de tester l'efficacité d'une supplémentation en micronutriments constituée de rutine, zinc, sélénium, vitamine A, vitamine E et vitamine D, dans le but de limiter les potentiels effets délétères de la consommation de fructose chez les rats âgés.

Un des objectifs complémentaires a été d'étudier *in vitro* le potentiel anti-inflammatoire de chacun de ces composés, dans un premier temps individuellement, puis en association.

PRESENTATION DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Pour répondre à ces différents objectifs un protocole expérimental a été mené chez le rat âgé, modèle couramment utilisé pour étudier la sarcopénie du fait de la mise en place relativement rapide de cette dernière. La cohorte, constituée de rats mâles Wistar, comprenait également un groupe de rats adultes servant de témoin. Après un mois d'acclimatation pendant lequel ils étaient maintenus en cage collective (trois rats par cage) et nourris avec un régime standard, les rats ont été répartis en 5 groupes, nourris pendant 5 mois avec les différents régimes expérimentaux. La période de 5 mois a été choisie car suffisamment longue pour observer un potentiel effet du régime sur la masse maigre.

Le premier groupe était constitué des rats adultes, nourris avec un régime standard (AIN-93). Le second groupe, servait de groupe témoin âgé, composé de rats âgés consommant le même régime standard que les rats adultes. Un troisième groupe constituait le groupe témoin supplémenté en rutine (5 g/kg de régime), zinc (+44%), sélénium (x10), vitamine E (x4), vitamine A (x2) et vitamine D (x5), afin d'étudier les effets de la supplémentation en micronutriments chez les rats âgés, indépendamment d'un effet du sucre. Pour ces trois premiers groupes nourris avec le régime standard, la source principale de glucides était l'amidon de blé (~50% de l'aliment), complétée par du saccharose (~13) et du lactose (~10%). Afin d'étudier les potentiels effets délétères entrainés par une consommation de fructose, l'intégralité de l'amidon du régime a été remplacé par du saccharose. Comme évoqué plus tôt, le choix a été fait d'apporter le fructose sous forme de saccharose (50% fructose – 50% glucose) et non de fructose pur afin de se rapprocher de l'alimentation humaine dans laquelle le fructose est apporté essentiellement sous cette forme. Les deux derniers groupes de rats ont donc été nourris avec ce régime saccharose, supplémentés ou non en micronutriments. La composition détaillée des régimes est décrite en Annexe 1 et les différents groupes de rats sont récapitulés dans le tableau suivant.

	Age au début de l'expérimentation	**Source principale de glucides**	**Supplémentation en micronutriments**
Groupe adulte (n=24)	8 mois	Amidon de blé	non
Groupe âgé témoin (n = 30)	16 mois	Amidon de blé	non
Groupe âgé témoin supplémenté (n = 30)	16 mois	Amidon de blé	oui
Groupe âgé saccharose (n = 30)	16 mois	Saccharose	non
Groupe âgé saccharose supplémenté (n = 30)	16 mois	Saccharose	oui

L'alimentation était accessible uniquement entre 8h30 et 16h30, ce qui a permis de ne pas perturber le rythme alimentaire des rats le jour de l'euthanasie. Durant les deux premiers mois, les animaux ont eu accès aux régimes *ad libitum*. Suite à une légère différence de consommation entre les groupes et afin d'assurer des apports énergétiques et protéiques équivalents chez tous les rats, durant les trois derniers mois d'expérimentation, la quantité d'aliment distribuée a été ajustée sur la consommation la plus faible, qui était celle des rats nourris avec le régime riche en saccharose. La quantité distribuée de 22 g/jour/rat, suffisante pour couvrir l'ensemble des besoins, a ainsi été totalement consommée dans tous les groupes.

Le **poids** des animaux a été mesuré une fois par semaine, et leur **composition corporelle** a été évaluée au début et à la fin de la période expérimentale par imagerie par résonance magnétique (Echo MRI international). Cette mesure a permis d'assurer un suivi de la masse maigre et de la masse grasse de chaque animal et ainsi d'avoir une meilleure représentation des effets du régime au cours du temps en s'affranchissant des écarts interindividuels. De la même façon, des prélèvements de sang dans la veine de la queue ont été réalisés en début, milieu et fin de période expérimentale afin de suivre l'évolution du statut inflammatoire de chaque rat.

Un **test de tolérance au glucose** (OGTT) a été effectué en fin de période de supplémentation, à la suite duquel les concentrations plasmatiques de glucose et d'insuline ont été mesurées.

À la fin de la période expérimentale, chaque groupe de rats a été euthanasié pour moitié à l'état post-absorptif (après une nuit de privation alimentaire), et pour moitié à l'état postprandial (après deux heures d'alimentation en continu). Vingt minutes avant l'euthanasie, chaque animal a reçu une injection de [1-13C]-valine, ce qui a permis de mesurer le **taux de synthèse protéique *in vivo*** dans le muscle (*gastrocnemius*), le foie et le cerveau (cervelet). Les **concentrations en protéines** ont également été déterminées dans ces différents tissus.

L'équilibre redox a été estimé au niveau systémique et tissulaire par une mesure de la capacité anti-oxydante totale plasmatique et hépatique, de l'activité de la SOD musculaire et hépatique et du glutathion total musculaire et hépatique.

Le statut inflammatoire a été évalué par une mesure des concentrations plasmatiques d'α2-macroglobuline et de fibrinogène plasmatiques en début, milieu et fin de période expérimentale. Ces marqueurs inflammatoires sont utilisés chez le rat pour déceler une inflammation chronique à bas bruit. En complément, la concentration plasmatique de TNF-α a été dosée en fin d'expérimentation uniquement.

La quantité de **produits terminaux de glycation** a été évaluée par une mesure de la quantité de carboxyméthyl lysine (CML, AGE très courant) par Western Blot dans le foie et le cerveau des animaux à jeun.

Concernant le **métabolisme lipidique**, le profil lipidique plasmatique a été établi par la mesure des triglycérides, du cholestérol total ainsi que du HDL, LDL et VLDL-cholestérol. Les lipides totaux et les triglycérides ont également été mesurés dans le foie afin d'évaluer l'infiltration lipidique hépatique. Dans le foie, la lipogenèse a été estimée grâce à une mesure des activités de la fatty acid synthase (FAS) et de l'ATP Citrate Lyase (ACLY), tandis que les activités de la Carnitine Palmitoyl Transférase (CPT) et de l'Acyl-CoA oxydase (ACOX) ont été mesurées pour évaluer la β-oxydation mitochondriale et peroxysomale respectivement.

L'activité de la **fructokinase** hépatique (FK) a également été déterminée, ainsi que la quantité totale en **glycogène** du foie.

Certains paramètres plasmatiques complémentaires ont été évalués afin d'avoir une vision globale des altérations entraînées par le fructose et le vieillissement. Nous avons notamment évalué l'atteinte hépatique par un dosage de l'alanine amino transférase (ALT) et de l'aspartate amino transférase (AST), mesuré la production d'acide urique dans le plasma ainsi que la concentration d'insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1).

Les résultats obtenus au cours de ce protocole expérimental mené chez l'animal ont été traités par organes (muscle, foie et cerveau) et seront présentés sous forme de publications.

En parallèle, une étude a été menée *in vitro*, sur des cellules C2C12 afin d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire des micronutriments qui constituent la supplémentation utilisée dans le régime. Le protocole expérimental ainsi que les résultats obtenus seront présentés séparément, sous forme de résultats complémentaires.

RESULTATS

- **Publication n°1** Chronic intake of sucrose accelerates sarcopenia in older male rats through alterations in insulin sensitivity and muscle protein synthesis – *Publiée le 20/02/2015 dans Journal of Nutrition, 145:923–30*

- **Résultats complémentaires au niveau musculaire** : Détermination du potentiel anti-inflammatoire de la quercétine, du zinc, du sélénium, de la vitamine A, de la vitamine E et de la vitamine D individuellement ou en association, sur des cellules C2C12 traitées avec un mélange IFNγ/LPS

- **Publication n°2** Effect of high chronic intake of sucrose on liver metabolism in aging rats. Modulation by rutin and other micronutrients – *Soumise*

- **Publication n°3** Effect of high chronic intake of sucrose on brain protein metabolism and neuro-inflammation in aging rats. Modulation by rutin and other micronutrients – *En cours de rédaction*

PUBLICATION N°1

Chronic intake of sucrose accelerates sarcopenia in older male rats through alterations in insulin sensitivity and muscle protein synthesis

Cette première publication a été l'occasion de présenter les résultats obtenus au niveau musculaire. Elle a donc permis de répondre à l'objectif principal de la thèse, à savoir déterminer si le fructose, *via* la consommation d'un régime composé à 62% de saccharose, accélérait la sarcopénie chez les rats âgés et si une supplémentation en micronutriments pouvait prévenir cet effet. Afin de simplifier la présentation des résultats, nous avons choisi de ne pas inclure le groupe de rats adultes à cette publication. En effet, les effets du vieillissement sur la masse musculaire et le métabolisme protéique sont déjà bien caractérisés chez le rat et la comparaison adultes – âgés n'apportait donc que peu d'informations supplémentaires.

Les résultats ont montré que les rats âgés nourris avec le régime saccharose ont perdu plus de masse maigre que les rats âgés témoins (-9,3% *vs* -5,8%) et avaient de plus petits muscles. Le régime riche en saccharose a donc effectivement induit une accélération de la sarcopénie. Cette accélération était, au moins en partie, due à une altération de l'anabolisme protéique postprandial puisque la synthèse protéique était moins stimulée par le repas chez les rats nourris avec le régime riche en saccharose (+6%) que chez les rats témoins (+23%).

Au vu de la littérature, cette altération pourrait être médiée par une augmentation du stress oxydant, de l'inflammation et/ou une diminution de la sensibilité à l'insuline, paramètres auxquels nous nous sommes donc intéressés. De façon surprenante, le régime saccharose a peu modifié le statut redox et inflammatoire. De plus, même l'âge a eu peu d'effet sur les marqueurs du stress oxydant et de l'inflammation choisis (comparaison rat adultes – rats âgés témoins, non présentée dans l'article). En revanche, la sensibilité à l'insuline, qui apparaissait elle aussi comme un facteur d'explication de la modification du métabolisme protéique musculaire, a été considérablement affectée par le régime riche en saccharose. En effet, une diminution de 59% de la sensibilité à l'insuline a été observée par rapport aux rats âgés témoins. Afin de vérifier la responsabilité de l'insuline dans les effets délétères du régime saccharose, l'IGF-1 plasmatique a également été dosé et s'est révélé similaire quel que soit le groupe.

En ce qui concerne la supplémentation en micronutriments, elle n'a eu d'effet ni sur la masse maigre et la synthèse protéique, ni sur la sensibilité à l'insuline. Ces résultats sont cohérents avec le fait que le stress oxydant et l'inflammation soient restés à des niveaux proches de la normale, malgré l'excès de sucre. En revanche, la supplémentation en micronutriments a permis de limiter la prise de masse grasse induite par le saccharose, suggérant un effet sur le métabolisme lipidique qu'il serait intéressant d'étudier.

Un régime riche en fructose accélère donc la perte de masse musculaire au cours du vieillissement en altérant la stimulation de la synthèse protéique postprandiale. Cet effet semble plutôt dû à une diminution de la sensibilité à l'insuline qu'à une augmentation de l'inflammation et du stress oxydant, expliquant le peu de bénéfices de la supplémentation en micronutriments.

The Journal of Nutrition
Nutrition and Disease

Chronic Intake of Sucrose Accelerates Sarcopenia in Older Male Rats through Alterations in Insulin Sensitivity and Muscle Protein Synthesis[1–3]

Eva Gatineau,[4,5] Isabelle Savary-Auzeloux,[4,5] Carole Migné,[4,5] Sergio Polakof,[4,5] Dominique Dardevet,[4,5] and Laurent Mosoni[4,5]*

[4]National Institute of Agronomic Research, Joint Research Unit 1019 for Human Nutrition, Saint Genès Champanelle, France; and
[5]Clermont 1 University, Research and Training Unit Medicine, Joint Research Unit 1019 for Human Nutrition, Clermont-Ferrand, France

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

JN THE JOURNAL OF NUTRITION

Abstract

Background: Today, high chronic intake of added sugars is frequent, which leads to inflammation, oxidative stress, and insulin resistance. These 3 factors could reduce meal-induced stimulation of muscle protein synthesis and thus aggravate the age-related loss of muscle mass (sarcopenia).

Objective: Our aim was to determine if added sugars could accelerate sarcopenia and assess the capacity of antioxidants and anti-inflammatory agents to prevent this.

Methods: For 5 mo, 16-mo-old male rats were starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet) or sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet) with or without rutin (5-g/kg diet), vitamin E (4 times), vitamin A (2 times), vitamin D (5 times), selenium (10 times), and zinc (+44%) (R) supplementation. We measured the evolution of body composition and inflammation, plasma insulin-like growth factor 1 (IGF-I) concentration and total antioxidant status, insulin sensitivity (oral-glucose-tolerance test), muscle weight, superoxide dismutase activity, glutathione concentration, and in vivo protein synthesis rates.

Results: Sucrose-fed rats lost significantly more lean body mass (−8.1% vs. −5.4%, respectively) and retained more fat mass (+0.2% vs. −33%, respectively) than starch-fed rats. Final muscle mass was 11% higher in starch-fed rats than in sucrose-fed rats. Sucrose had little effect on inflammation, oxidative stress, and plasma IGF-I concentration but reduced the insulin sensitivity index (divided by 2). Meal-induced stimulation of muscle protein synthesis was significantly lower in sucrose-fed rats (+7.3%) than in starch-fed rats (+22%). R supplementation slightly but significantly reduced oxidative stress and increased muscle protein concentration (+4%) but did not restore postprandial stimulation of muscle protein synthesis.

Conclusions: High chronic sucrose intake accelerated sarcopenia in older male rats through an alteration of postprandial stimulation of muscle protein synthesis. This effect could be explained by a decrease of insulin sensitivity rather than by changes in plasma IGF-I, inflammation, and/or oxidative stress. *J Nutr* doi: 10.3945/jn.114.205583.

Keywords: sarcopenia, protein synthesis, fructose, antioxidant, insulin sensitivity, rats

Introduction

Aging is associated with a progressive loss of skeletal muscle mass and function (sarcopenia), which leads to a decrease in mobility and independence and an increase in morbidity (1, 2). It can result from decreased physical activity, endocrine changes, neural factors, inadequate nutrition, and inflammation but also occurs in well-nourished active healthy elderly subjects. Consistent findings showed that it could be partly explained by a decreased ability of aged muscle to respond appropriately to food intake; in adults, the meal stimulates muscle protein synthesis and inhibits muscle proteolysis, which results in a net gain of muscle protein mass called anabolism. Daily, this anabolism compensates fasting net protein loss. During aging, a defect in muscle protein synthesis response to the anabolic effect of the meal develops (3–5), leading to an imbalance between protein anabolism and catabolism during the day and a slow erosion of muscle protein mass.

Meal-induced stimulation of muscle protein synthesis is mainly caused by combined action of insulin and absorbed amino acids.

[1] Supported by the National Institute of Agronomic Research (INRA), France.
[2] Author disclosures: E Gatineau, I Savary-Auzeloux, C Migné, S Polakof, D Dardevet, and L Mosoni, no conflicts of interest.
[3] Supplemental Figure 1 is available from the ''Online Supporting Material'' link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at http://jn.nutrition.org.
* To whom correspondence should be addressed. E-mail: laurent.mosoni@clermont.inra.fr.

© 2015 American Society for Nutrition.
Manuscript received October 14, 2014. Initial review completed November 18, 2014. Revision accepted February 20, 2015.
doi: 10.3945/jn.114.205583.

Amino acids, in particular, Leu (a substrate for protein synthesis and a signaling molecule), stimulate protein synthesis; insulin has a permissive effect on this stimulation and facilitates muscle nutrient delivery through an increase in blood flow (6, 7). During aging, there is a decrease in the sensitivity of muscle protein synthesis to amino acids/Leu (4, 5, 8) and an impaired endothelial responsiveness, explaining an altered insulin action on muscle blood flow (9).

In addition to "normal" aging, factors that increase insulin resistance, inflammation, and oxidative stress (these factors being related) aggravate muscle anabolism defect. Low-grade inflammation accelerates sarcopenia (10) and triggers, in old rats, the defect in muscle protein synthesis response to the meal (11). Its prevention restores meal response and improves muscle mass (8, 12). Antioxidant supplementation normalizes the sensitivity of muscle protein synthesis to stimulation by Leu in old rats (13). Inflammation and oxidative stress reduce endothelial responsiveness to insulin (9). Consistently, insulin resistance is associated with lean mass loss in old men (14) and in old diabetic patients, this lean mass loss can be attenuated by insulin sensitizers (15).

Other factors are now in motion in our societies that could add to normal aging and accelerate age-related deterioration of meal-induced muscle anabolism. Indeed, several authors consider that "added sugars," i.e., glucose, fructose, sucrose, etc., which are added in food products, are responsible for the development of dyslipidemia, hypertension, insulin resistance, oxidative stress, and inflammation (16–18). Mechanisms involved are complex, but fructose is supposed to play a central role (18, 19). Since 1949, US sugar deliveries for human consumption have increased by ~75% (20). In 1970, the situation worsened with the introduction of high-fructose corn syrups, which increased fructose proportion in sugar intake. At the world level, added sugar intake is still increasing (18). Many studies analyzed added sugar effect on metabolic syndrome in human or animal models. However, very few focused on aging, and, to our knowledge, no studies analyzed added sugar effects on sarcopenia, which was the aim of this study. Our hypothesis was that because added sugars can induce insulin resistance, inflammation, and oxidative stress, this could, in turn, aggravate the age-related defect in meal-induced muscle anabolism and accelerate sarcopenia.

In addition, added sugars–induced metabolic disturbances are reduced by polyphenols/antioxidants such as resveratrol (21), allium sativum (16), quercetin (22), cranberry pomace (23), or grape seed extract (24). Similarly, we showed that rutin; vitamins E, A, and D; selenium; and zinc (R)[6] supplementation restored muscle protein synthesis sensitivity to Leu in old rats (13). We proposed that R supplementation could also be efficient to counteract our hypothetical accelerating effect of added sugars on sarcopenia. Thus, to test the effect of added sugars on sarcopenia, and the interaction with R supplementation, we fed 16-mo-old Wistar rats for 5 mo with a control diet, with or without R supplementation, or with a diet in which starch was replaced by sucrose, with or without R supplementation. For 5 mo, we followed the evolution of body weight, food intake, lean body mass, fat mass, and plasma markers of inflammation, and after 5 mo, we compared in each group muscle mass, insulin sensitivity, plasma insulin-like growth factor 1 (IGF-I) concentration, oxidative stress, and the meal response of in vivo muscle protein synthesis.

Methods

Animals and diet. This experiment was conducted in accordance with institutional guidelines on animal experimentation in France and was approved by the Ethics Committee in Animal Experiments of Auvergne (registration number CE 56-12). Male 16-mo-old Wistar rats (n = 120; Janvier) were housed under controlled environmental conditions (21°C, 55% hygrometry, 12-h dark period starting at 0700) and were allowed free access to water and food (standard pellets, UAR 04). After 1 mo of acclimation, animals were randomly divided into 4 groups (n = 30/group) and were fed 4 different diets as dry powders: starch-fed [St (13% sucrose and 49% wheat starch diet)] rats were fed control diet [AIN-93 (25)]; St + R supplementation rats were fed the same diet supplemented with rutin (5 g/kg of dry matter in substitution with cellulose), vitamin E (all-*rac*-α-tocopherol acetate, 500 IU/g, 60-g/kg vitamin mixture instead of 14.2), vitamin A (all-*trans*-retinyl palmitate, 500,000 IU/g, 1.6-g/kg vitamin mixture instead of 0.8), vitamin D (cholecalciferol-D, 500,000-IU/kg vitamin mixture instead of 100,000), selenium (sodium selenite anhydrous, 0.14-g/kg mineral mixture instead of 0.01025), and zinc (zinc carbonate, 2.95-g/kg mineral mixture instead of 1.65); sucrose-fed [Su (62% sucrose and 0% wheat starch diet)] rats were fed control diet in which wheat starch was replaced by sucrose; Su + R supplementation rats were fed this sucrose diet with R supplementation. Food was freely available between 0830 and 1600 every day. During the first 2 mo, rats consumed ad libitum, and then, because of small differences in food intake, the amount of food offered was adjusted to ~22 g/d, which was totally consumed in all groups. Food intake was monitored every 2–3 d during the first 2 mo, and then every day. Body weight was measured once a week. Body composition was recorded before and at the end of the experimental period using MRI (Echo MRI International). At 0, 3, and 5 mo, a blood sample was withdrawn from a lateral tail vein to measure plasma acute-phase proteins (α-2-macroglobulin and fibrinogen). The penultimate week, oral-glucose-tolerance tests (OGTTs) were performed. Animals were fed glucose by gavage (2 g of glucose/kg body weight using a 50% glucose solution in tap water). Blood samples were collected in tubes containing EDTA from the tail vein at −2, 15, 30, 60, and 120 min after glucose administration. Finally, on the fifth month of the experiment, in vivo muscle protein synthesis rates were measured either in the postabsorptive state (after overnight food deprivation) for one-half of the rats or in the postprandial state (2 h after food distribution) for the other half of the rats. Thus, rats studied during the postprandial state had continuous access to food during 2 h. They consumed ~16 of the 22 g of food offered.

The final number of rats per group ranged from 8 to 10.

Measurements of in vivo protein synthesis and tissue sampling. Protein synthesis rates were measured using the flooding dose method. Twenty minutes before death, each rat was injected intravenously with L-Val (150 μmol/100 g body weight) containing 80% of L-[1–^{13}C] Val (Euriso-Top) to flood the precursor pool. Rats were then killed after anesthesia with pentobarbital sodium (6 mg/100 g body weight) by exsanguination through the abdominal aorta. Posterior leg skeletal muscles (gastrocnemius, tibialis anterior, extensor digitorum longus, and soleus) were quickly excised, weighted, and frozen in liquid nitrogen until further analysis. Protein synthesis rates were measured in the tibialis anterior as described previously (26) by measuring muscle-free and protein-bound Val enrichments after grinding in liquid nitrogen in a ball mill (Dangoumeau, Prolabo), and protein extraction with trichloroacetic acid. RNA content was measured in the supernatant after several extraction-centrifugation cycles as described previously (3). Muscle protein content was determined in an aliquot of frozen muscle powder from total nitrogen content (×6.25) using a vario isotope cube analyzer (Elementar) according to the Dumas method.

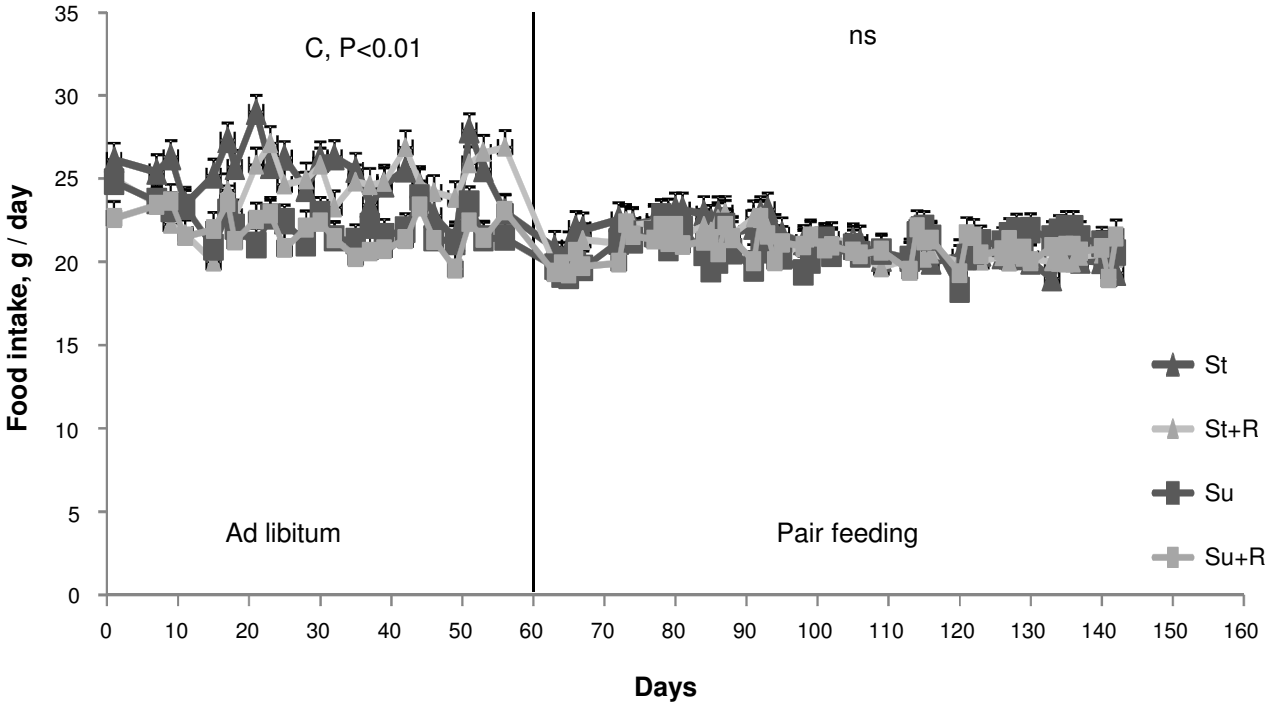
Calculations. In vivo muscle fractional synthesis rates (FSRs; percent per day) were calculated as described previously (3): FSR = 100 ×

[6] Abbreviations used: ASR, absolute synthesis rate; FSR, fractional synthesis rate; IGF-I, insulin-like growth factor 1; OGTT, oral-glucose-tolerance test; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; RE, ribosomal efficiency; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet).

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

Online Supporting Material

Supplemental Figure 1 Evolution of food intake in older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 months.



During the first two months, rats ate ad libitum, and for the last 3 months ~22 g/day were distributed to each rat (pair-feeding). 2-factor ANOVA, Carbohydrate x R supplementation, were conducted, and significant effects are given. Values are means ± SE (n=19-20). C = carbohydrate; ns = nonsignificant (P > 0.05).

(EP − EN)/(EA × t), where t is incorporation time, expressed in days; EP and EA (atom %) are ^{13}C enrichments of protein-bound Val and muscle-free Val, respectively; and EN (atom %) is an estimation of the natural ^{13}C enrichment of protein-bound Val. It was determined in rats that were not injected with the flooding dose (2–3/group). Absolute synthesis rates (ASRs) were calculated from the product of FSRs with protein content and expressed in milligrams per day. Ribosomal capacity was calculated as the ratio of total RNA (most of the RNA in tissues is ribosomal) to protein (milligrams of RNA per gram of protein). Ribosomal efficiency was calculated as the amount of protein synthesized (milligrams) per day per milligram of RNA.

Plasma measurements. Plasma fibrinogen was measured by turbidimetry on an automated chemistry analyzer (ABX Pentra 400; Horiba). Plasma concentration of α-2-macroglobulin was measured by ELISA (ELISA kit from Immunology Consultants Laboratory, Inc.). For OGTTs, insulin concentration was determined with a commercial ELISA kit (10-1250-01; Mercodia AB) and glucose concentration was determined using the ABX Pentra 400 analyzer and glucose PAP kit (Horiba). Plasma total antioxidant capacity was measured using the TAS kit (Randox Laboratories) and ABX Pentra 400. Plasma IGF-I concentration was also measured at the end of the experiment by ELISA (R&D Systems).

Muscle oxidative status. Total glutathione content (reduced + oxidized) was determined in the tibialis anterior as previously described by Malmezat (27) on the ABX Pentra 400. In the same muscle, superoxide dismutase activity was measured using the RANSOD kit (Randox Laboratories) after homogenization of an aliquot of frozen muscle powder in the SD124 buffer of the kit (phosphate buffer) and centrifugation.

Statistical analysis. Data were analyzed *1*) by 2-factor ANOVA, carbohydrate (starch or sucrose) × R supplementation (with or without R supplementation); *2*) by 3-factor ANOVA, carbohydrate × R supplementation × nutritional state (postabsorptive or postprandial) for muscle protein metabolism; *3*) by repeated-measures 2-factor ANOVA, carbohydrate × R supplementation × time, when measurements were repeated over time (body weight, food intake, and inflammation); and *4*) by 3-factor ANCOVA, carbohydrate × R supplementation × nutritional state × total muscle protein content for muscle FSRs. Fisher's test was used for post hoc comparisons of means. The t test was used to assess if differences in body composition before and after the experiment were different from 0. Survival was compared between groups using log-rank test. We used SAS software. Data are expressed as means ± SEs. The level of significance was set at $P < 0.05$.

Results

Food intake, body weight, and survival. During the ad libitum intake periods, sucrose feeding induced a 12% decrease in food intake ($P < 0.01$; **Supplemental Figure 1**). Although these differences were small, we adjusted food intake of all groups to the intake of Su + R supplementation rats (~22 g/d, which is sufficient). Thus, during this pair-feeding period (Supplemental Figure 1), there was no longer any significant difference in food intake between groups.

Weight was similar in all groups at the beginning of the experiment (St: 607 ± 13 g; St + R supplementation: 611 ± 14 g; Su: 605 ± 13 g; Su + R supplementation: 608 ± 14 g). It was stable in all groups during the first 2 mo, and then, in all groups, it decreased significantly ($P < 0.01$) during months 3, 4, and 5 (from month 1 to 5, respectively: St, 609 ± 15 g, 615 ± 15 g, 583 ± 14 g, 564 ± 12 g, and 537 ± 11 g; St + R supplementation, 618 ± 14 g, 626 ± 14 g, 600 ± 14 g, 586 ± 11 g, and 558 ± 11 g; Su, 606 ± 11 g, 606 ± 11 g, 585 ± 9 g, 571 ± 11 g, and 568 ± 10 g; Su + R supplementation, 605 ± 15 g, 610 ± 15 g, 589 ± 13 g, 578 ± 13 g, and 574 ± 14 g). This time-related decrease in weight was significantly different in sucrose- and starch-fed rats ($P < 0.01$): the rate of decrease was lower in sucrose-fed rats (−2%/mo) than in starch-fed rats (−4%/mo), especially between months 4 and 5 (−5% in starch-fed rats, −1% in sucrose-fed rats). Consequently, month 5 was the only month where a significant difference was observed between groups: weight was significantly higher in sucrose-fed rats than in starch-fed rats ($P = 0.04$). There was never any significant effect of R supplementation.

The total number of spontaneous deaths over 5 mo was 9 in St, 10 in St + R supplementation, 11 in Su, and 11 in Su + R supplementation groups. There was no significant difference in survival between groups. This mortality rate (34% at 22 mo) was close to what is usually observed, 50% mortality at 23–24 mo (28).

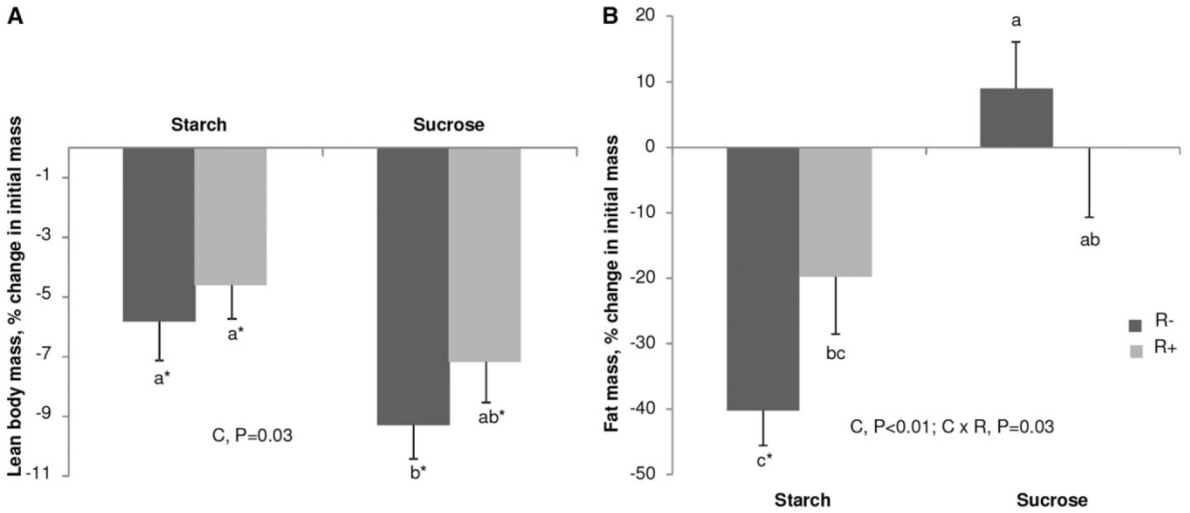


FIGURE 1 Evolution of body composition in older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo. We calculated for each rat the percent change = 100 × (final mass − initial mass)/initial mass. (A) Lean body mass. (B) Fat mass. Two-factor ANOVA, C × R supplementation, were conducted, and significant effects are given. Values are means ± SEs (n = 18–20). *Significantly different from 0. Labeled means without a common letter differ, $P < 0.05$. C, carbohydrate; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc.

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

TABLE 1 Muscle weights of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo[1]

	St	St + R supplementation	Su	Su + R supplementation	ANOVA[2]
Muscle absolute weight					
Gastrocnemius, g	2.19 ± 0.06	2.13 ± 0.09	1.97 ± 0.10	2.15 ± 0.09	ns
Tibialis anterior, g	0.64 ± 0.02[a]	0.65 ± 0.02[a]	0.57 ± 0.02[b]	0.61 ± 0.03[a,b]	C, $P = 0.02$
EDL, mg	215 ± 4	214 ± 6	197 ± 8	214 ± 6	ns
Soleus, mg	228 ± 10[a]	228 ± 10[a]	198 ± 10[b]	216 ± 11[a,b]	C, $P = 0.04$
Muscle relative weight					
Gastrocnemius, %BW	0.41 ± 0.01[a]	0.39 ± 0.02[a,b]	0.35 ± 0.01[b]	0.37 ± 0.01[b]	C, $P < 0.01$
Tibialis anterior, %BW	0.12 ± 0.01[a]	0.12 ± 0.01[a]	0.10 ± 0.01[b]	0.11 ± 0.01[b]	C, $P < 0.001$
EDL, ‰BW	0.41 ± 0.01[a]	0.39 ± 0.01[a,b]	0.35 ± 0.01[c]	0.37 ± 0.01[b,c]	C, $P < 0.001$; C × R supplementation, $P = 0.03$
Soleus, ‰BW	0.43 ± 0.02[a]	0.42 ± 0.02[a,b]	0.35 ± 0.01[c]	0.37 ± 0.02[b,c]	C, $P < 0.001$

[1] Values are means ± SE (n = 16–20). Labeled means in a row without a common letter differ, $P < 0.05$. C, carbohydrate; EDL, extensor digitorum longus; ns, nonsignificant ($P >$ 0.05); R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet); %BW, percent body weight; ‰BW, per mille body weight.
[2] ANOVA significant effects.

Body composition and tissue weight. Lean body mass decreased significantly ($P < 0.01$) in all groups during the experimental period (**Figure 1**A). This loss was significantly higher in sucrose-fed than in starch-fed rats ($P = 0.03$). There was no effect of R supplementation.

Fat mass decreased significantly during the experimental period only in St rats (Figure 1B). A significant effect of carbohydrate feeding ($P < 0.01$) was detected: sucrose prevented the age-related loss of fat mass. There was also a significant interaction between the effects of carbohydrate and R supplementation: the effect of R supplementation was significantly different ($P = 0.03$) in starch-fed rats (slowing the age-related loss of fat mass) and in sucrose-fed rats (preventing sucrose-induced increase in fat mass).

When expressed in proportion to body weight, in all muscles, muscle weight was significantly lower in sucrose-fed than in starch-fed rats (**Table 1**). This was also the case for absolute muscle weight in tibialis anterior and soleus muscles. R supplementation had no effect on muscle weight in any of the muscles. However, in the extensor digitorum longus muscle, for values expressed in proportion to body weight, there was a significant interaction in carbohydrate × R supplementation: the effect of R supplementation was significantly different ($P = 0.03$) in starch-fed rats (decrease) and in sucrose-fed rats (increase). In any case, it seems clear that sucrose feeding accelerated the age-related loss of muscle mass.

Muscle oxidative stress markers. Sucrose feeding had no effect on tibialis anterior muscle total glutathione content and concentration (**Table 2**). However, there was a significant interaction between the effects of carbohydrate and R supplementation: R supplementation significantly increased glutathione (micromoles and micromoles per gram) in starch-fed rats, whereas it had no effect in sucrose-fed rats. Regarding muscle superoxide dismutase activity, the only significant effect detected was a decrease induced by R supplementation (Table 2).

Systemic antioxidant and inflammation markers. Plasma antioxidant activity was significantly increased by R supplementation in starch-fed rats (St = 0.76 ± 0.03 mmol/L vs. St + R supplementation = 0.85 ± 0.03 mmol/L) as well as in sucrose-fed rats (Su = 0.79 ± 0.03 mmol/L vs. Su + R supplementation = 0.91 ± 0.03 mmol/L).

Repeated-time ANOVA showed that plasma α-2-macroglobulin values tended to be higher ($P = 0.06$) in sucrose-fed than in starch-fed rats (**Figure 2**A). Values in all groups decreased during the first 3 mo and then increased during the last 2 mo ($P < 0.01$). This increase in the last 2 mo was significantly higher in sucrose-fed than in starch-fed rats (P-interaction = 0.02). Over the 5 mo of the experiment, plasma α-2-macroglobulin increased by 0.05% and 5.8% in starch-fed rats (St and St + R supplementation, respectively, not significant) and by 28% and 35% in sucrose-fed rats (Su and Su + R supplementation, respectively, significant with $P = 0.01$ only in the Su + R supplementation group). However, final α-2-macroglobulin concentrations were not significantly different between groups.

Neither carbohydrate nor R supplementation had an effect on plasma fibrinogen concentrations (Figure 2B), even though there was an effect of time ($P < 0.01$).

OGTT. Plasma glucose concentrations in feed-deprived rats did not differ among the groups (overall mean ± SE: 5.97 ± 0.26 mmol/L). Plasma glucose concentration reached its peak 15 min after glucose gavage in all groups without significant differences between groups (peak and AUC). Fasting plasma insulin

TABLE 2 Tibialis anterior muscle glutathione content and SOD activity of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo[1]

	St	St + R supplementation	Su	Su + R supplementation	ANOVA[2]
Glutathione concentration, μmol/g	0.71 ± 0.03[b]	0.80 ± 0.04[a]	0.82 ± 0.04[a]	0.74 ± 0.04[a,b]	C × R supplementation, $P = 0.03$
Total glutathione, μmol	0.46 ± 0.02[a,b]	0.53 ± 0.03[a]	0.48 ± 0.03[a,b]	0.43 ± 0.04[b]	C × R supplementation, $P = 0.05$
SOD activity, U/mg protein	5.39 ± 0.17 [a,b]	5.09 ± 0.17[b]	5.72 ± 0.17[a]	5.23 ± 0.17[b]	R supplementation, $P = 0.01$

[1] Values are means ± SE (n = 17–19). Labeled means in a row without a common letter differ, $P < 0.05$. C, carbohydrate; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; SOD, superoxide dismutase; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet).
[2] ANOVA significant effects.

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

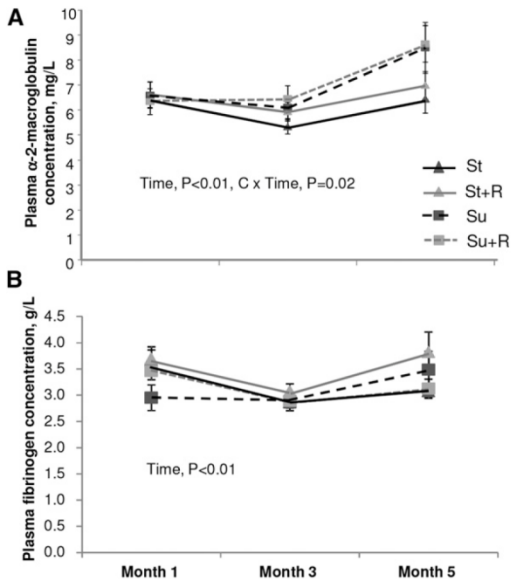


FIGURE 2 Evolution of systemic inflammation markers in older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo. (A) Plasma α-2-macroglobulin concentration (mg/L). (B) Plasma fibrinogen concentration (mg/L). Repeated-measures 2-factor ANOVA, C × R supplementation × time, were conducted, and significant effects are given. Values are means ± SEs; n = 17–20 (A) and n = 14–20 (B). C, carbohydrate; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet).

concentrations were higher in sucrose-fed than in starch-fed rats (P = 0.03). Group means ± SEs were St, 1.01 ± 0.30 μg/L; St + R supplementation, 0.97 ± 0.31 μg/L; Su, 1.38 ± 0.19 μg/L; and Su + R supplementation, 1.87 ± 0.28 μg/L. Mean value in the Su + R supplementation group was significantly different from values in the St and St + R supplementation groups. After glucose gavage, significant differences appeared at 30 and 60 min (higher levels in sucrose-fed than in starch-fed rats) and the AUC was also significantly higher. As a result, insulin sensitivity, calculated according to Matsuda and DeFronzo (29), was lower in sucrose-fed than in starch-fed rats (P < 0.01; **Figure 3**). R supplementation had no significant effects on insulin sensitivity, glycemia, or insulin concentrations before or during OGTT.

IGF-I. Plasma IGF-I concentrations did not differ among the groups (overall mean ± SE: 899 ± 22 μmol/L).

Muscle protein metabolism. Sucrose induced a significant loss of protein mass (P = 0.05) without affecting muscle protein concentration (**Table 3**). R supplementation slightly but significantly increased muscle protein concentration (P < 0.01) but had no effect on protein mass (Table 3). Ribosomal capacity (RNA content per gram of protein) was increased by sucrose feeding (P = 0.03); in response to R supplementation, it remained stable in starch-fed rats, whereas it decreased in sucrose-fed rats; thus, there was a significant interaction of carbohydrate × R supplementation (P = 0.05). FSRs (percent protein synthetized per day − FSR), ASRs (amount of protein synthetized per day − ASR), and ribosomal efficiency (RE; amount of protein synthetized per day and per gram of RNA − RE), which are the only markers sensitive to the nutritional state, were, as expected, stimulated by feeding (Table 3). It was the only significant effect for ASR and RE. For FSR, we showed previously that this marker is highly correlated to the age-related loss of muscle mass, which introduces "noise" when studying the effect of feeding (30). To take this factor into account, a good solution is to use a variance-covariance analysis using total protein as a covariate (measured independently of FSR and highly significant, P < 0.001). This analysis detected a significant interaction between carbohydrate and nutritional state (P = 0.04), showing that muscle protein synthesis was less stimulated by the meal in sucrose-fed than in starch-fed rats (**Figure 4**). ASR, FSR, and RE mean values seemed specifically low in Su + R supplementation postprandial rats, suggesting an effect of R supplementation on the postprandial response of muscle protein synthesis in sucrose-fed rats. However, this would require a significant carbohydrate × R supplementation × nutritional state interaction and it was not the case (P > 0.3). In addition, such an effect is not consistent with other results (evolution of lean body mass and lack of effect of R supplementation). Sucrose was responsible for the decreased postprandial response of muscle protein synthesis (Figure 4).

Discussion

The aim of this study was to determine if added sugars can modulate the age-related loss of muscle mass (sarcopenia). Additionally, we tested the capacity of R supplementation to prevent hypothetical deleterious effects of added sugars. We showed that feeding old rats over 5 mo with a diet in which all starch was replaced by sucrose induced an accelerated age-related loss of lean body mass and hind limb muscle mass and that R supplementation had little influence on this phenomenon.

The aging rat is a convenient model to study sarcopenia because sarcopenia is rapid and well characterized in this animal (3). Because fructose is considered as central in the deleterious effects of added sugars on metabolic syndrome, authors often used as "rodent added sugars model" diets containing only fructose and no starch or glucose (18). However, it seemed more relevant to the human situation to use a sucrose model; we estimate that our rats consumed ~4 times the average intake of added sugars observed in humans, with a proportion of fructose close to what is observed in humans (50% in our rats, ~47% in humans).

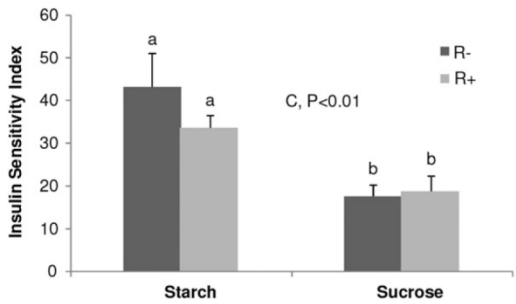


FIGURE 3 Insulin sensitivity index of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo. Insulin sensitivity index = 10000/√ [(fasting plasma glycemia × fasting plasma insulinemia) × (mean OGTT glucose × mean OGTT insulin concentration)] [according to Matsuda and DeFronzo (29)]. Two-factor ANOVA, C × R supplementation, were conducted, and significant effects are given. Values are means ± SEs (n = 7–8). Labeled means without a common letter differ, P < 0.05. C, carbohydrate; OGTT, oral glucose tolerance test; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc.

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

TABLE 3 Tibialis anterior protein metabolism of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 mo[1]

Nutr	St	St + R supplementation	Su	Su + R supplementation	ANOVA[2]
Total protein, mg					
Postabsorptive	140 ± 8[a]	139 ± 8[a]	130 ± 10[a]	154 ± 17[a]	C, $P = 0.05$
Postprandial	141 ± 6[b]	168 ± 10[a]	126 ± 7[b]	143 ± 5[b]	
Protein concentration, mg/g muscle					
Postabsorptive	224 ± 4[b]	229 ± 5[a,b]	222 ± 5[b]	237 ± 4[a]	R supplementation, $P < 0.01$
Postprandial	224 ± 2[a]	230 ± 2[a]	223 ± 3[a]	233 ± 4[a]	
Ribosomal capacity, mg RNA/g protein					
Postabsorptive	4.9 ± 0.3[b]	5.0 ± 0.3[a,b]	5.7 ± 0.3[a]	4.7 ± 0.3[b]	C, $P = 0.03$; C × R supplementation, $P = 0.05$
Postprandial	4.6 ± 0.3[b]	4.6 ± 0.3[b]	5.4 ± 0.3[a]	5.0 ± 0.3[a,b]	
FSRs, %/d					
Postabsorptive	6.0 ± 0.6[a]	6.3 ± 0.5[a]	7.1 ± 0.6[a]	6.1 ± 0.8[a]	Nutr, $P < 0.001$; Nutr × C, $P = 0.03$[3]
Postprandial	7.4 ± 0.3[a,b]*	7.0 ± 0.4[a,b]*	8.0 ± 0.3[a]	6.2 ± 0.7[b]	
ASRs, mg protein synthetized/d					
Postabsorptive	8.2 ± 0.8[a]	8.5 ± 0.4[a]	8.9 ± 0.6[a]	8.9 ± 0.8[a]	Nutr, $P < 0.001$
Postprandial	10.3 ± 0.6[a,b]*	11.5 ± 0.4[a]*	10.1 ± 0.5[a,b]	8.7 ± 0.9[b]	
RE, g protein synthetized/d and protein synthesized/g RNA					
Postabsorptive	12.1 ± 0.9[a]	12.9 ± 1.2[a]	12.4 ± 0.8[a]	13.5 ± 1.1[a]	Nutr, $P < 0.01$
Postprandial	16.4 ± 1.4[a]*	15.3 ± 0.8[a,b]	15.4 ± 1.3[a,b]*	12.9 ± 1.0[b]	

[1] Values are means ± SEs (n = 6–9). Muscle protein synthesis rates were measured in vivo using the flooding dose method. Absolute synthesis rates were calculated from the product of fractional synthesis rates with protein content. Ribosomal capacity was calculated as the ratio of total RNA:protein. Ribosomal efficiency was calculated as the amount of protein synthesized per day per gram of RNA. *Different from postabsorptive value, $P < 0.05$. Labeled means in a row without a common letter differ, $P < 0.05$. C, carbohydrate; ASR, absolute synthesis rate; FSR, fractional synthesis rate; Nutr, nutritional state; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; RE, ribosomal efficiency; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet).
[2] ANOVA significant effects.
[3] Total protein was used as a covariate according to Mosoni et al. (30).

Although many studies analyzed the effects of added sugars intake on liver, adipose tissue, brain, or systemic homeostasis (31), few studies focused on muscle, especially during aging. To our knowledge, no other studies analyzed the effect of added sugars on sarcopenia. We showed that sucrose accelerated the age-related loss of lean body mass and hind limb muscle mass. In accordance with our results, in growing rats, high sucrose intake during 48 d also reduced gastrocnemius muscle mass (22). Thus, it seems clear that added sugars can accelerate sarcopenia.

Because the evolution of muscle mass is dependent on the change in muscle protein synthesis, we analyzed the effects of sucrose on muscle FSRs, ASRs, and RE. Although there were tendencies, it was only for FSRs that a significant interaction was detected between sucrose and nutritional state, showing that sucrose reduced postprandial stimulation of FSRs. This lower meal-induced stimulation of FSRs could explain the sucrose-induced accelerated loss of muscle proteins observed. A similar phenomenon has been observed during normal aging in rats (3) and in humans (32). It is now recognized that a decrease in the sensitivity of muscle protein synthesis to meal stimulation develops during aging (8). Our results suggest that added sugars potentiate this phenomenon.

This could be caused by insulin sensitivity modifications. Indeed, we showed, using OGTT, that sucrose-fed rats had a lower sensitivity to insulin. After glucose load, glycemia was not different in starch- and sucrose-fed rats, but more insulin was necessary in sucrose-fed rats to achieve this. No similar OGTT study was performed in sucrose- or fructose-fed aging rats. Fasting glycemia was measured after 9, 18, or 26 mo of high sucrose feeding in rats (33): fasting glycemia was increased in sucrose-fed rats compared with starch-fed rats only after 26 mo. The effect of added sugars on insulin resistance was more extensively studied in growing rats. Clamp studies performed after 1, 2, 5, and 8 wk of sucrose feeding showed that hepatic insulin resistance appears after 1 wk, and muscle insulin resistance appears progressively, beginning at week 2 (34). Other studies confirmed that evolution of glycemia after OGTT was close to normal in sucrose- or fructose-fed growing rats (23, 35). Interestingly, the use of an intraperitoneal glucose tolerance test (16) led to more marked differences in glycemia between growing fructose-fed rats and control rats. This

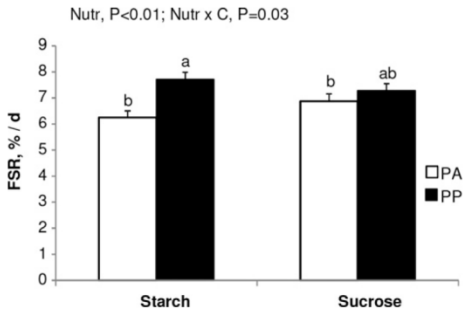


FIGURE 4 FSRs in muscle of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose for 5 mo (see Table 3 for detailed results). To illustrate the significant interaction between sucrose and Nutr effects, we pooled St and St + R supplementation rats and Su and Su + R supplementation rats. Three-factor covariance ANOVA, C × R supplementation × Nutr × total protein mass, was conducted, and significant effects are given. Values are means ± SEs (n = 6–10). Labeled means without a common letter differ, $P < 0.05$. C, carbohydrate; FSR, fractional synthesis rate; Nutr, nutritional state; PA, postabsorptive state; PP, postprandial state; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium, and zinc; St, starch fed (13% sucrose and 49% wheat starch diet); Su, sucrose fed (62% sucrose and 0% wheat starch diet).

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

could be because of the effects of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide that are bypassed when using an intraperitoneal injection. Thus, added sugars clearly induce alterations in insulin sensitivity, but glycemia is often still maintained.

However, the effect of added sugars on insulin action on protein metabolism was never studied. Insulin has a permissive effect on the stimulation of muscle protein synthesis by amino acids (6). It also increases muscle blood flow (7). Muscle mass is decreased in many insulin-resistant disease states (diabetes, cancer, and renal failure). In a model of muscle insulin receptor knockout mice, it was shown that muscle mass (and function) was also reduced and that it was not due to oxidative stress or increased proteolysis; it seemed only caused by the lack of insulin signaling toward protein synthesis (36). Thus, in our study, it is possible that sucrose altered insulin-mediated protein synthesis activation and that resulted in sarcopenia acceleration. This could start a vicious cycle because reduced muscle mass (a major site for substrate oxidation) promotes insulin resistance.

We wondered whether alterations of growth hormone/IGF-I axis could be induced by sucrose feeding and be partly responsible for acceleration of lean body mass loss in sucrose-fed rats. It seems that it was not the case because plasma IGF-I concentrations were not different in sucrose- and starch-fed rats, which is consistent with results obtained in young rats fed a 60% fructose diet for 12 wk (37). Thus, modification in insulin sensitivity remains our main hypothesis to explain the observed effect of fructose on sarcopenia acceleration.

Another way for added sugars to affect muscle protein synthesis would be inflammation. Indeed, we showed previously that the presence of low-grade inflammation altered the sensitivity of muscle protein synthesis to feeding in aging rats (11, 12). In the present study, sucrose-induced inflammation was modest compared with these previous results: fibrinogen concentration was 78% of previously observed values and α-2-macroglobulin concentration only 3% of previously observed values.

Similarly, sucrose had also a marked effect on body fat mass; it increased in Su rats whereas it decreased in St rats. Such an increase in fat mass after high-sucrose (38) or -fructose (39, 40) feeding was already described in growing rats. It seems recognized that a high-sucrose diet is able to upregulate the lipogenesis pathway (38). The decrease observed in St rats is consistent with results observed in aging rats (41). It must be noted that in our study, R supplementation reduced the age-related decrease in fat mass and prevented the fructose-induced increase in fat mass. The effects were not marked, but it is remarkable to see that they were opposite in starch- and sucrose-fed rats, although it always tended to normalize fat mass. This brings to mind the ponderostat hypothesis (42). Indeed, the ponderostat hypothesis suggests that a ponderostat signal (which could be estrone, an estrogen synthetized in white adipose tissue and stored as oleyl-estrone) could be released in the bloodstream in proportion to adipose tissue mass, and the brain could then trigger the release of diverse hormones and signals to bring back adipose tissue mass to a "normal" value. Glucocorticoids could be specifically responsible for alterations in this ponderostat setting (42). A possible interaction between antioxidants and estrone is unknown. However, polyphenols were already shown to have an influence on body fat mass regulation (43–45) and to modulate glucocorticoid action (46).

Apart from this effect on fat mass, R supplementation had the expected effects on plasma antioxidant value and small effects on muscle oxidative stress. It had no effect on inflammation but inflammation was low. In addition, it had no effects on sucrose-induced alterations in insulin sensitivity. However, for similar doses, rutin was shown to reduce glycemia in streptozotocin-induced diabetes (47) and to improve OGTT in insulin-resistant mice (48). Other polyphenols (green tea polyphenols and grape seed extracts) improved insulin signaling or insulin sensitivity during high fructose intake (24, 49). It is thus surprising to have no effect of rutin in our experiment. It could be related to the fact that animals were older than in other published experiments.

In addition, R supplementation had no effects on lean body mass, muscle mass, or muscle protein synthesis rates. However, there was a tendency for a positive effect on muscle total protein content ($P = 0.08$) and a significant positive effect on muscle protein concentration. Previously, we showed that a similar supplementation was able to restore a normal stimulation of muscle protein synthesis by Leu (13, 50). Thus, it is possible that a small positive effect of such supplementation on muscle protein mass exists, maybe through stimulation of muscle protein synthesis or through inhibition of muscle proteolysis.

In conclusion, sucrose feeding accelerated the age-related loss of lean body mass and muscle mass. The mechanism involved could be alterations in insulin sensitivity leading to a weaker stimulation of muscle protein synthesis by the meal. R supplementation could not prevent this phenomenon, although it had a small effect on muscle protein mass in starch- and sucrose-fed rats. The main effect of R supplementation was a ponderostat-like effect on body fat mass. Thus, long-term consumption of added sugars can accelerate sarcopenia and should be avoided.

Acknowledgments

We thank Christophe Del'homme, Philippe Denis, Philippe Lhoste, and Arlette Cissoire for animal management and Nordine Hafnaoui for technical assistance. EG, SP, DD, and LM designed the research; EG, IS-A, CM, and LM conducted the research; EG and LM analyzed the data; EG and LM wrote the paper. LM had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

References

1. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. J Nutr 1997;127:990S–1S.
2. Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. Am J Clin Nutr 2010;91:1123S–7S.
3. Mosoni L, Valluy MC, Serrurier B, Prugnaud J, Obled C, Guezennec CY, Mirand PP. Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. Am J Physiol 1995;268: E328–35.
4. Dardevet D, Sornet C, Balage M, Grizard J. Stimulation of in vitro rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age. J Nutr 2000;130:2630–5.
5. 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.
6. Tesseraud S, Métayer S, Duchêne S, Bigot K, Grizard J, Dupont J. Regulation of protein metabolism by insulin: value of different approaches and animal models. Domest Anim Endocrinol 2007;33: 123–42.
7. Liu Z, Long W, Fryburg DA, Barrett EJ. The regulation of body and skeletal muscle protein metabolism by hormones and amino acids. J Nutr 2006;136:212S–7S.
8. Dardevet D, Rémond D, Peyron M-A, Papet I, Savary-Auzeloux I, Mosoni L. Muscle wasting and resistance of muscle anabolism: the "anabolic threshold concept" for adapted nutritional strategies during sarcopenia. ScientificWorld Journal 2012;269531.
9. Timmerman KL, Volpi E. Endothelial function and the regulation of muscle protein anabolism in older adults. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2013;23(Suppl 1):S44–50.

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

10. Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, Nevitt M, Harris TB. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2002;57:M326–32.
11. Balage M, Averous J, Rémond D, Bos C, Pujos-Guillot E, Papet I, Mosoni L, Combaret L, Dardevet D, Dardevet D. Presence of low-grade inflammation impaired postprandial stimulation of muscle protein synthesis in old rats. J Nutr Biochem 2010;21:325–31.
12. Rieu I, Magne H, Savary-Auzeloux I, Averous J, Bos C, Peyron MA, Combaret L, Dardevet D. Reduction of low grade inflammation restores blunting of postprandial muscle anabolism and limits sarcopenia in old rats. J Physiol 2009;587:5483–92.
13. Marzani B, Balage M, Vénien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D, Mosoni L. Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats. J Nutr 2008; 138:2205–11.
14. Lee CG, Boyko EJ, Strotmeyer ES, Lewis CE, Cawthon PM, Hoffman AR, Everson-Rose SA, Barrett-Connor E, Orwoll ES. Association between insulin resistance and lean mass loss and fat mass gain in older men without diabetes mellitus. J Am Geriatr Soc 2011;59:1217–24.
15. Lee CG, Boyko EJ, Barrett-Connor E, Miljkovic I, Hoffman AR, Everson-Rose SA, Lewis CE, Cawthon PM, Strotmeyer ES, Orwoll ES. Insulin sensitizers may attenuate lean mass loss in older men with diabetes. Diabetes Care 2011;34:2381–6.
16. Sivaraman KS, Senthilkumar GP, Sankar P, Bobby Z. Attenuation of oxidative stress, inflammation and insulin resistance by allium sativum in fructose-fed male rats. J Clin Diagn Res 2013;7:1860–2.
17. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. Hypertension 1987;10:512–6.
18. Tappy L, Lê K-A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. Physiol Rev 2010;90:23–46.
19. Khitan Z, Kim DH. Fructose: a key factor in the development of metabolic syndrome and hypertension. J Nutr Metab 2013;682673.
20. USDA Economic Research Service [Internet]. Sugar & sweeteners yearbook tables. Washington (DC): USDA [cited 2015 Jan 9]. Available from: http://www.ers.usda.gov/topics/crops/sugar-sweeteners.
21. Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R, Bastia T, Madhusudana K, Reddy BR, Chakravarty S, Banerjee SK. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. Pharmacol Res 2012;66:260–8.
22. Phuwamongkolwiwat P, Suzuki T, Hira T, Hara H. Fructooligosaccharide augments benefits of quercetin-3-O-β-glucoside on insulin sensitivity and plasma total cholesterol with promotion of flavonoid absorption in sucrose-fed rats. Eur J Nutr 2014;53:457–68.
23. Khanal RC, Howard LR, Wilkes SE, Rogers TJ, Prior RL. Cranberry pomace partially ameliorates metabolic factors associated with high fructose feeding in growing Sprague–Dawley rats. J Funct Foods 2010; 2:284–91.
24. Meeprom A, Sompong W, Suwannaphet W, Yibchok-anun S, Adisakwattana S. Grape seed extract supplementation prevents high-fructose diet-induced insulin resistance in rats by improving insulin and adiponectin signalling pathways. Br J Nutr 2011;106:1173–81.
25. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr 1993;123:1939–51.
26. Adéchian S, Giardina S, Rémond D, Papet I, Buonocore D, Gaudichon C, Dardevet D, Marzatico F, Mosoni L. Excessive energy intake does not modify fed-state tissue protein synthesis rates in adult rats. Obesity (Silver Spring) 2009;17:1348–55.
27. Malmezat T, Breuillé D, Pouyet C, Mirand PP, Obled C. Metabolism of cysteine is modified during the acute phase of sepsis in rats. J Nutr 1998;128:97–105.
28. Takeuchi H, Sekine S, Noguchi O, Murano Y, Aoyama T, Matsuo T. Effect of life-long dietary *n*-6/*n*-3 fatty acid ratio on life span, serum lipids and serum glucose in Wistar rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2009;55:394–9.
29. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. Diabetes Care 1999;22:1462–70.
30. Mosoni L, Patureau Mirand P, Houlier ML, Arnal M. Age-related changes in protein synthesis measured in vivo in rat liver and gastrocnemius muscle. Mech Ageing Dev 1993;68:209–20.
31. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. Am J Physiol Endocrinol Metab 2010;299:E685–94.
32. Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB, Wolfe RR. The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:4481–90.
33. Lingelbach LB, Mitchell AE, Rucker RB, McDonald RB. Accumulation of advanced glycation endproducts in aging male Fischer 344 rats during long-term feeding of various dietary carbohydrates. J Nutr 2000;130:1247–55.
34. Pagliassotti MJ, Prach PA, Koppenhafer TA, Pan DA. Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. Am J Physiol 1996;271:R1319–26.
35. Pranprawit A, Wolber FM, Heyes JA, Molan AL, Kruger MC. Short-term and long-term effects of excessive consumption of saturated fats and/or sucrose on metabolic variables in Sprague Dawley rats: a pilot study. J Sci Food Agric 2013;93:3191–7.
36. O'Neill ED, Wilding JPH, Kahn CR, Van Remmen H, McArdle A, Jackson MJ, Close GL. Absence of insulin signalling in skeletal muscle is associated with reduced muscle mass and function: evidence for decreased protein synthesis and not increased degradation. Age (Dordr) 2010;32:209–22.
37. Ross AP, Bruggeman EC, Kasumu AW, Mielke JG, Parent MB. Non-alcoholic fatty liver disease impairs hippocampal-dependent memory in male rats. Physiol Behav 2012;106:133–41.
38. Fortino MA, Lombardo YB, Chicco A. The reduction of dietary sucrose improves dyslipidemia, adiposity, and insulin secretion in an insulin-resistant rat model. Nutrition 2007;23:489–97.
39. Vasiljević A, Bursać B, Djordjevic A, Milutinović DV, Nikolić M, Matić G, Veličković N. Hepatic inflammation induced by high-fructose diet is associated with altered 11βHSD1 expression in the liver of Wistar rats. Eur J Nutr 2014;53:1393–402.
40. Madani Z, Louchami K, Sener A, Malaisse WJ, Ait Yahia D. Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF-α and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome. Int J Mol Med 2012;29:311–8.
41. Tang H, Vasselli JR, Wu EX, Boozer CN, Gallagher D. High-resolution magnetic resonance imaging tracks changes in organ and tissue mass in obese and aging rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002;282:R890–9.
42. Alemany M. Steroid hormones interrelationships in the metabolic syndrome: an introduction to the ponderostat hypothesis. Hormones (Athens) 2012;11:272–89.
43. Hsu C-L, Wu C-H, Huang S-L, Yen G-C. Phenolic compounds rutin and o-coumaric acid ameliorate obesity induced by high-fat diet in rats. J Agric Food Chem 2009;57:425–31.
44. Wu C-H, Lin M-C, Wang H-C, Yang M-Y, Jou M-J, Wang C-J. rutin inhibits oleic acid induced lipid accumulation via reducing lipogenesis and oxidative stress in hepatocarcinoma cells. J Food Sci 2011;76:T65–72.
45. Murase T, Nagasawa A, Suzuki J, Hase T, Tokimitsu I. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. Int J Obes Relat Metab Disord 2002;26:1459–64.
46. Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. Biochem Pharmacol 2006;72: 1439–52.
47. Niture NT, Ansari AA, Naik SR. Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers. Indian J Exp Biol 2014;52:720–7.
48. Hsu C-Y, Shih H-Y, Chia Y-C, Lee C-H, Ashida H, Lai Y-K, Weng C-F. Rutin potentiates insulin receptor kinase to enhance insulin-dependent glucose transporter 4 translocation. Mol Nutr Food Res 2014;58:1168–76.
49. Qin B, Polansky MM, Harry D, Anderson RA. Green tea polyphenols improve cardiac muscle mRNA and protein levels of signal pathways related to insulin and lipid metabolism and inflammation in insulin-resistant rats. Mol Nutr Food Res 2010;54:S14–23.
50. Mosoni L, Balage M, Vazeille E, Combaret L, Morand C, Zagol-Ikapitte I, Boutaud O, Marzani B, Papet I, Dardevet D. Antioxidant supplementation had positive effects in old rat muscle, but through better oxidative status in other organs. Nutrition 2010;26:1157–62.

Downloaded from jn.nutrition.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on March 26, 2015

RESULTATS COMPLEMENTAIRES

1. OBJECTIFS

Cette étude *in vitro* sur culture de cellules musculaires de souris a été pensée en complément de l'étude réalisée *in vivo* dans le muscle. En effet, le problème de l'étude du muscle *in vivo* est qu'il est parfois difficile de savoir si les effets bénéfiques d'une supplémentation en micronutriments proviennent d'un effet systémique ou d'un effet local au niveau musculaire. Ainsi, dans le contexte d'une fonte musculaire, la prévention de cette perte de muscle peut être liée, par exemple, à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline ou à une limitation du stress oxydant *in situ* dans le muscle. Grâce à la culture C2C12, on peut agir directement sur un modèle de cellules musculaires en s'affranchissant de l'influence des facteurs systémiques.

D'autre part, nous souhaitions évaluer *in vivo* les effets bénéfiques d'un mélange de rutine, zinc, sélénium, vitamine A, vitamine E et vitamine D pour prévenir les effets délétères du vieillissement et d'un régime riche en sucre. Chacun de ces micronutriments possède des propriétés spécifiques pouvant être modulées par le fait d'être apportés en mélange. Il n'était pas possible *in vivo* de tester les effets spécifiques de chaque micronutriment dans le muscle, ni de déterminer d'éventuels effets synergiques. Par contre, l'étude *in vitro* permettait de tester chaque micronutriment individuellement et d'apporter ainsi des informations complémentaires à l'étude menée *in vivo*.

Notre objectif était donc d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire de la quercétine, du zinc, du sélénium et des vitamines A, E et D, individuellement dans des cellules musculaires, et de mettre en évidence d'éventuelles synergies en mesurant la production de monoxyde d'azote (NO). Nous souhaitions également mesurer la synthèse protéique dans ces cellules, mais les problèmes rencontrés ne nous ont pas permis d'aller jusque-là.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Entretien de la lignée cellulaire

Les cellules utilisées sont des myoblastes de souris de la lignée cellulaire C2C12.

Composition des milieux de culture

Milieu de prolifération :

- DMEM 4.5 g Glucose
- 2% L-Glutamine

- 1% acides aminés non essentiels
- 0.1% Gentamycine
- 10% sérum de veau fœtal

Milieu de différenciation :

- DMEM 4.5 g Glucose
- 2% L-Glutamine
- 1% acides aminés non essentiels
- 0.1% Gentamycine
- 5% sérum de cheval

Milieu de traitement

- DMEM 4.5 g Glucose, sans rouge de phénol
- 2% L-Glutamine
- 1% acides aminés non essentiels
- 0.1% Gentamycine

Les cellules étaient ensemencées dans 10 ml de milieu de prolifération dans des boîtes de Petri de 10 cm de diamètre et incubées à 37°C en atmosphère humide à 5% de saturation en CO_2. Lorsque les cellules atteignaient la confluence (après 48h), elles étaient décollées avec 1 ml de trypsine et récupérées dans 2mL de milieu de prolifération. Après centrifugation à 500g pendant 5min à 4°C, le culot de cellules était repris en milieu de prolifération avec le volume adapté au rapport de repiquage.

2.2. Conditions expérimentales

Pour le besoin des expériences, les cellules étaient ensemencées dans des plaques de 24 puits à raison de 10 000 cellules par puits dans 500 µl de milieu de prolifération. Lorsque les cellules atteignaient environ 80% de confluence, le milieu de prolifération était remplacé par 500 µl de milieu de différenciation, afin que les myoblastes se différencient en myotubes. Les cellules étaient traitées avec les différents micronutriments après 5 jours de différenciation. Les micronutriments ont été testés à différentes concentrations :

- Vitamine A (acide transrétinoïque) : 0,1 à 30 µM
- Vitamine E (α-tocophérol) : 10 à 200 µM
- Zinc ($ZnCl_2$): 5 à 150 µM
- Sélénium (Na_2SeO_3) : 0,1 à 150 µM
- Vitamine D (1,25 dihydroxy vitamine D3) : 1 à 200 nM
- Quercétine : 20 à 150 µM (le choix a été fait d'utiliser la quercétine et non la rutine afin de prendre en compte le métabolisme intestinal de cette dernière)

L'inflammation était induite par un mélange d'interféron γ (IFNγ) à 10 ng/ml et de lipopolysaccharide (LPS) à 1µg/ml (le choix de ce mélange est expliqué dans le

paragraphe 3.1 qui suit). Les solutions de traitement étaient réalisées dans le milieu de traitement qui sert de témoin.

Après 24h de co-traitement micronutriment / IFNγ + LPS, les surnageants sont récupérés pour le dosage du monoxyde d'azote (NO) et les cellules sont mises en contact avec une solution de 3-[4,5-diméthylethiazol-2-yl]-2,5-diphényl tetrazolium bromide (MTT) pour l'estimation de la viabilité cellulaire.

2.3. Test de viabilité cellulaire

Après avoir retiré le surnageant, les cellules sont mises en contact avec une solution de MTT (0,5mg/mL) à raison de 500 µL par puits. Les cellules sont ensuite incubées à 37°C pendant 3 heures. La solution de MTT est alors remplacée par 500 µL de DMSO, à température ambiante pendant 30 minutes. Après incubation, 100 µL de DMSO sont prélevés pour une lecture spectrométrique à 595nm en plaque 96 puits (spectrophotomètre Infinite M200Pro – Tecan France, Lyon, France).

2.4. Dosage du monoxyde d'azote (NO)

La production de NO est mesurée à l'aide du réactif de Griess (Fisher Scientific, Illkirch, France). Après 24h de traitement, 100 µL de surnageant sont mis en contact avec 100µL de réactif de Griess. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, une lecture spectrophotométrique est effectuée à 550 nm. La quantité de NO est évaluée en fonction d'une gamme de $NaNO_2$.

2.5. Analyse statistique

La moyenne des valeurs obtenues et l'erreur standard à la moyenne sont calculées à partir des résultats de 3 expériences distinctes pour lesquelles chaque condition était testée en 4 répétitions. Les analyses statistiques des résultats concernant les différences entre les traitements sont réalisées par analyse de variance à un facteur (ANOVA), suivies par un test *post-hoc* (test de Fisher). Une valeur p inférieure à 0,05 est considérée comme significative.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Induction de l'inflammation

Afin de tester le potentiel anti-inflammatoire des différents micronutriments, la première étape était d'induire une inflammation suffisante. Cette inflammation était évaluée par le dosage du NO qui reflète l'activation de la NO synthase inductible, régulée par le facteur de transcription NF-κB. S'intéresser à ce médiateur de l'inflammation nous paraissait d'autant plus judicieux que la voie iNOS/NO pourrait participer à la perte de masse musculaire induite par les cytokines pro-inflammatoires qui peut être observée dans la sarcopénie (*Hall et al., 2011*) (voir Chapitre I, paragraphe 3.5.3., p.20). Dans un premier temps, une incubation des

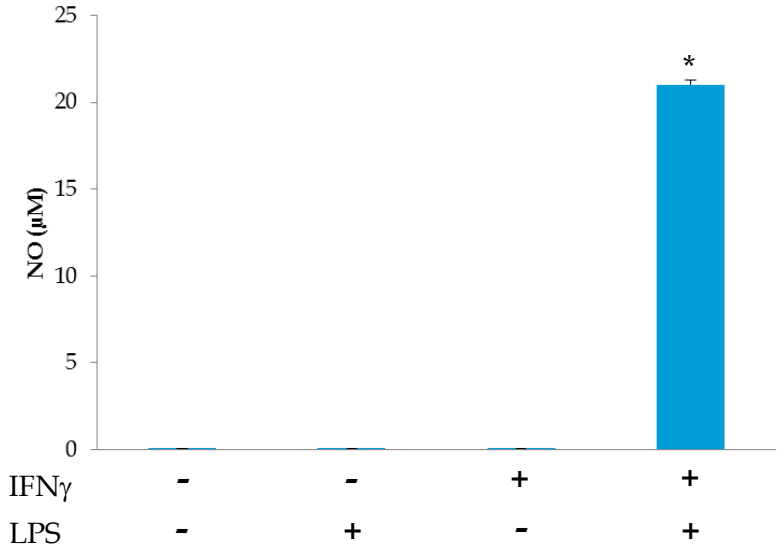


Figure I : Concentration de NO dans le surnageant après 24h de traitement avec une solution d'IFNγ (10 ng/ml), de LPS (1 µg/ml) et de IFNγ (10 ng/ml) + LPS (1µg/ml)

Les résultats sont les moyennes obtenues à partir de 3 expérimentations distinctes pour lesquelles chaque condition était réalisée en 4 répétitions et sont exprimés en µmol de NO ± SE. * P<0.05 *vs* témoin, test de Fisher.

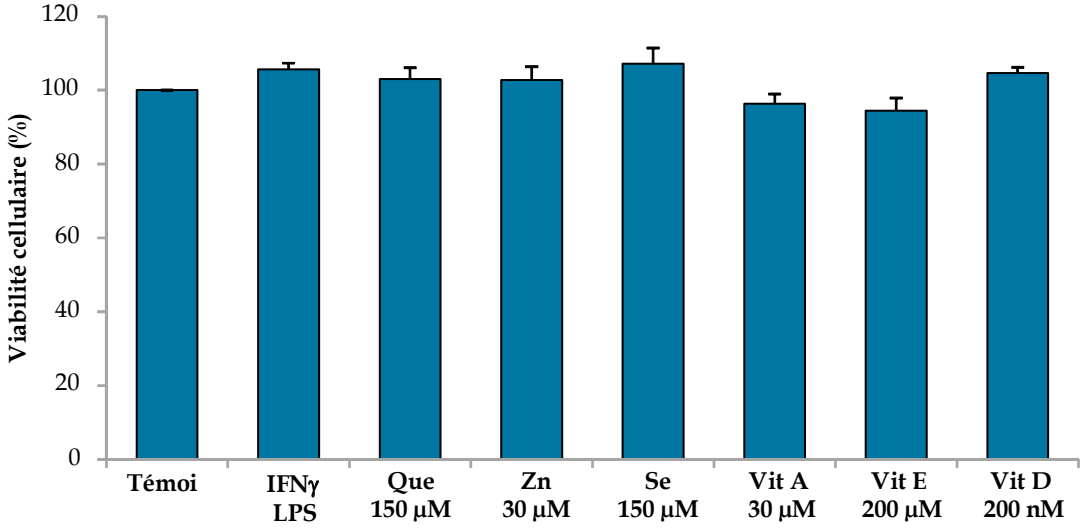


Figure II: Pourcentage de viabilité des cellules C2C12 après 24h de traitement avec une solution d'IFNγ/LPS ou en co-traitement avec les différents micronutriments.

Les résultats sont les moyennes obtenues à partir de 3 expérimentations distinctes pour lesquelles chaque condition était réalisée en 4 répétitions et sont exprimés en pourcentage de la valeur du témoin ± SE.

cellules avec une solution de LPS à 1 et 2 µg/ml a été testée. Cette incubation n'induisait aucune production de NO. Une incubation avec une solution d'INFγ a ensuite été expérimentée, sans plus de résultats. C'est finalement une solution de LPS (1 µg/ml) + IFNγ (10 ng/ml) qui a permis d'induire une production de NO (**Figure I**). Bien que certains auteurs aient été capables d'induire la synthèse de iNOS *(Frost et al., 2004)* et la production de NO *(Kawanishi et al., 2008)* par des cellules C2C12 avec une solution de LPS seul, il avait déjà été montré que la combinaison IFNγ / LPS était nécessaire pour induire l'expression de iNOS *(Frost et al., 2009)*. Cet effet synergique pourrait être dû à l'annulation de la tolérance aux endotoxines par l'IFNγ, permettant l'induction de l'inflammation par le LPS *(Chen and Ivashkiv, 2010)*.

Malgré la capacité de ce mélange à induire une production de NO par les cellules C2C12, nous avons rencontré des difficultés dues à la grande variabilité de la quantité de NO produite, allant de 0 à 60 µM. En effet, il s'avèrerait que cette production soit dépendante de différents paramètres, dont certains ont été difficiles à contrôler. Tout d'abord, il était difficile d'obtenir une quantité de NO suffisante avant un certain nombre de repiquage des cellules (environ une dizaine), sans que nous puissions l'expliquer. De plus, il semble que les cellules C2C12 soient capables d'induire une production de NO seulement dans des conditions optimales de différenciation, a priori dépendantes du niveau de confluence au moment d'induire la différenciation. En effet, il semblerait qu'une densité de cellules trop importante altère la production de NO. Dans les cellules C2C12, la différenciation est généralement induite lorsque les cellules atteignent environ 80% de confluence, cependant ce pourcentage est déterminé visuellement, il peut donc être imprécis et entraîner une variabilité de la production de NO. Ceci pourrait expliquer pourquoi certains auteurs choisissent d'induire la différenciation à environ 70% de confluence pour induire l'iNOS *(Navarro-Lérida et al., 2004)*.

Ces difficultés ont considérablement allongé la durée de l'expérimentation *in vitro* et un grand nombre d'essais a été nécessaire pour obtenir les résultats présentés ci-dessous. Seuls les expérimentations où la quantité de NO dans le surnageant induite par la solution d'IFNγ / LPS était supérieure à 10µM ont été prises en compte.

3.2. Viabilité cellulaire

Ce mélange IFNγ (10 nmol/ml) /LPS (1 µg/ml) a dans un premier temps été testé seul afin de s'assurer qu'il n'était pas toxique pour les cellules C2C12. Le traitement de 24h n'a pas engendré de différence significative de viabilité cellulaire par rapport au témoin (milieu de traitement seul) (**Figure II**). Le co-traitement avec les micronutriments n'a pas eu non plus d'incidence significative sur la viabilité

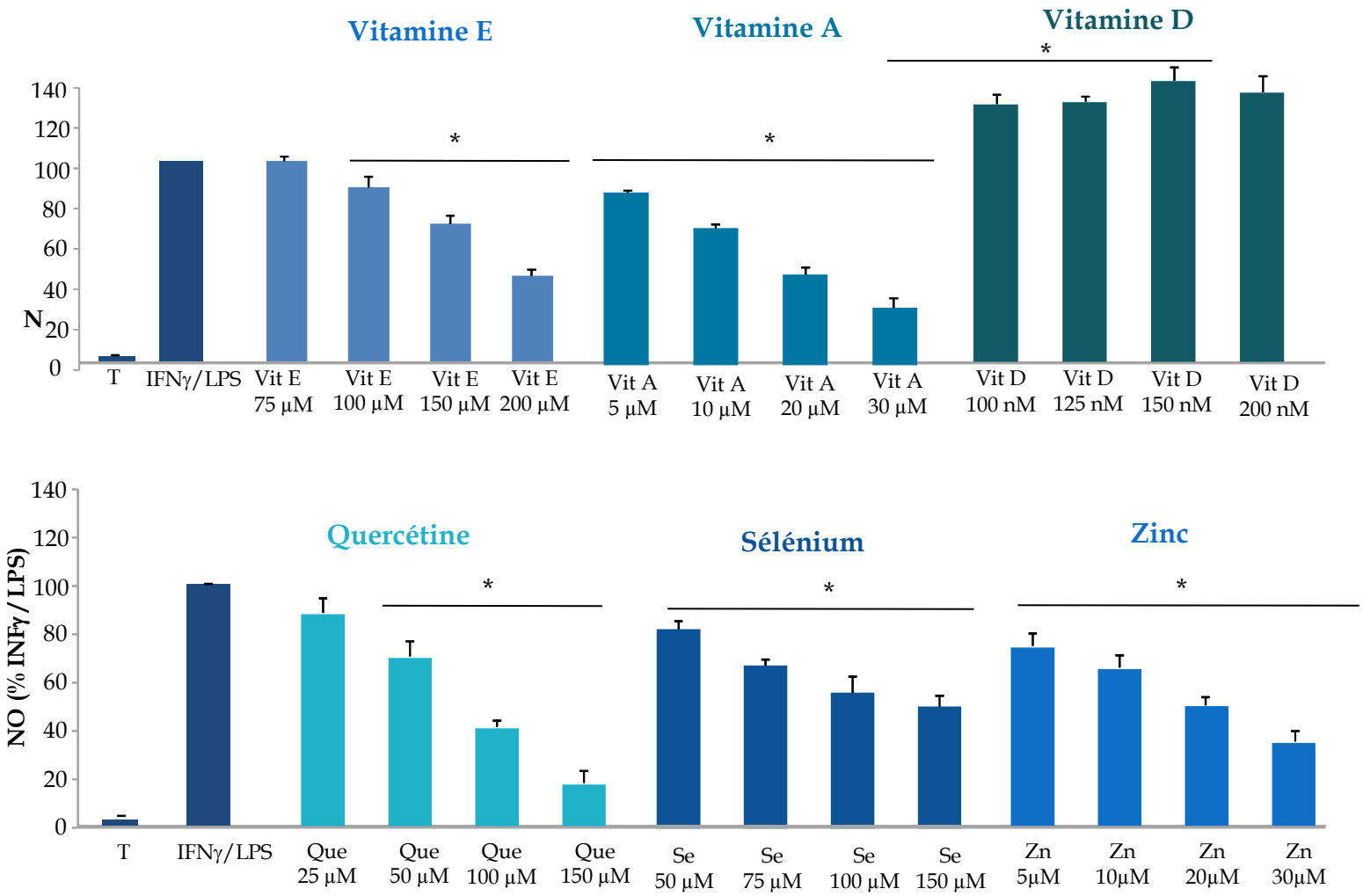


Figure III: Concentration de NO dans le surnageant après 24h de traitement avec une solution d'IFNγ/LPS et en co-traitement avec les différents micronutriments.

Les résultats sont les moyennes obtenues à partir de 3 expérimentations distinctes pour lesquelles chaque condition était réalisée en 4 répétitions et sont exprimés en pourcentage de la valeur du traitement IFNγ/LPS seul ± SE. * P<0.05 *vs* cellules traitées avec la solution de IFNγ/LPS seule, test de Fisher. T : témoin DMEM seul.

cellulaire quelle que soit la concentration testée (les résultats sont présentés uniquement pour la concentration maximale testée). Ces résultats permettent de nous assurer de la non toxicité des différents traitements sur les cellules C2C12 et donc que les effets qui seront observés sur l'inflammation ne seront pas biaisés par un effet sur la viabilité cellulaire. Ces résultats sont en accord avec de précédents résultats ne démontrant pas de toxicité des micronutriments testés à ces concentrations sur les cellules C2C12 ou d'autres lignées cellulaires lorsqu'ils n'ont pas été étudiés sur ces myoblastes de souris.

3.3. Inhibition de l'inflammation – Composés seuls

Chacun des micronutriments a été testé seul et à différentes concentrations pour tester sa capacité à inhiber la production de NO induite par la solution d'IFNγ / LPS. Les résultats sont présentés pour les gammes de concentrations qui se sont révélées efficaces (**Figure III**). À l'exception de la vitamine D, tous les micronutriments ont eu un effet inhibiteur dose-dépendant sur la production de NO par les cellules C2C12. La vitamine A et le zinc se sont révélés être les plus efficaces avec une IC50 (concentration inhibitrice 50%) inférieure à 20 µM (**Tableau 1**). Seule la quercétine avait déjà été testée sur les cellules C2C12 en ce qui concerne sa capacité à inhiber la production de NO. Elle présentait un effet inhibiteur dès 5 µM, soit une concentration dix fois inférieure à celle qui s'est révélée efficace dans nos travaux *(Dai et al., 2013)*. Cependant, les conditions expérimentales étaient légèrement différentes puisque la production de NO était induite par une solution de TNF-α et le co-traitement quercétine/TNF-α était précédé d'un pré-traitement de 2h avec de la quercétine seule. Pour les autres composés, aucunes données n'étant à notre connaissance disponibles dans les cellules C2C12, les résultats ont été comparés à ceux obtenus dans d'autres types cellulaires afin d'estimer les ordres de grandeur des concentrations inhibitrices. Pour l'acide rétinoïque (vitamine A), la production de NO a été inhibée dans une culture primaire de cellules musculaires lisses vasculaires à une concentration de 10µM et des résultats similaires ont été obtenus dans des cellules mésangiales *(Datta and Lianos, 1999; Hirokawa et al., 1994)*. Ces résultats sont donc très comparables avec ceux obtenus dans les myotubes. Il est également intéressant de noter qu'à de plus faibles concentrations (de l'ordre de 10 à 100 nM), l'acide rétinoïque augmente la production de NO par des macrophages *(Austenaa and Ross, 2001)*. Pour le sélénium et l'α-tocophérol (vitamine E), une inhibition de la production de NO a également été mise en évidence dans des macrophages, mais pour des concentrations inférieures à celles observées dans les myotubes (dès 5 µM pour le sélénium après traitement de 48h et dès 10µM pour l'α-tocophérol) *(Ng and Ko, 2012; Yun et al., 2007)*. Au contraire, le zinc inhibe la production de NO à partir de 100µM dans les cellules endothéliales, alors que dans les myotubes, une inhibition est

Tableau 1 : Concentrations de quercétine, zinc, sélénium, vitamine A, vitamine E et vitamine D inhibant 50% de la production de NO des cellules C2C12 traitées durant 24h avec une solution d'IFNγ/LPS (IC50).

Micronutriment	IC 50
Quercétine	**70 µM**
Zinc	**20 µM**
Sélénium	**130 µM**
Vitamine A	**15 µM**
Vitamine E	**180 µM**
Vitamine D	**-**

observée dès 5 µM *(Cortese-Krott et al., 2014)*. En ce qui concerne la vitamine D, elle est généralement testée pour des concentrations de l'ordre du nM. Par exemple dans des cellules microgliales, elle est capable d'inhiber la production de NO dès 10 nM *(Lefebvre d'Hellencourt et al., 2003)*, alors que dans les myotubes elle n'a eu aucun effet inhibiteur à ces concentrations (données non montrées) et a même augmenté la production de NO pour des concentrations supérieures ou égales à 100 nM, bien que cette augmentation soit très faible et qu'elle ne semble pas dose-dépendante. Cette capacité de stimulation de la production de NO par la vitamine D a déjà été observée dans les cellules endothéliales et passerait par une stimulation de p38, Akt et ERK suite à l'interaction entre la vitamine D et les VDR *(Molinari et al., 2011)*. Au niveau des cellules endothéliales, le NO possède avant tout un rôle vasodilatateur et dans des conditions physiologiques normales, sa synthèse est assurée par la NOS endothéliale (eNOS). Dans le cas de l'inflammation induite par l'IFNγ et le LPS, le NO est synthétisé par la NOS inductible (iNOS), essentiellement sous le contrôle de NF-κB, et les mécanismes mis en jeu sont donc différents. Cependant, les VDR étant exprimés dans les cellules C2C12, et l'iNOS étant également stimulée par l'activation p38, on peut imaginer que la stimulation de la synthèse de NO par la vitamine D dans les myotubes implique des mécanismes similaires à ceux observés dans les cellules endothéliales.

Ces résultats confirment donc le pouvoir anti-inflammatoire de la quercétine, du zinc, du sélénium et des vitamines A et E et montrent qu'il peut s'exercer au niveau musculaire. Pour ces composés nous avons pu calculer la concentration qui permet d'inhiber 50% de la production de NO induite par la solution d'IFNγ/LPS (**Tableau 1**). En revanche, la vitamine D n'a démontré aucun effet inhibiteur sur la production de NO à des concentrations efficaces dans d'autres types cellulaires.

3.4. Inhibition de l'inflammation – interactions

Les micronutriments ont ensuite été testés en association deux à deux puis en mélange complet, quercétine, zinc, sélénium, vitamine A, vitamine E, vitamine D. D'une manière générale, il existe plusieurs types d'interactions possibles entre les micronutriments. Certains nutriments peuvent par exemple être en compétition, c'est notamment le cas lorsqu'ils agissent sur des voies similaires et interagissent avec les même récepteurs. Au contraire, si leurs mécanismes d'action sont totalement indépendants, il y aura une addition des effets de chacun des micronutriments. Enfin, il peut se créer une synergie entre certains micronutriments, lorsque l'activité de l'un va potentialiser celle de l'autre. Dans ce cas l'effet combiné des micronutriments sera supérieur à la somme de leurs effets pris séparément. Bien que les mécanismes précis n'aient pas été étudiés ici, les résultats suivants permettent

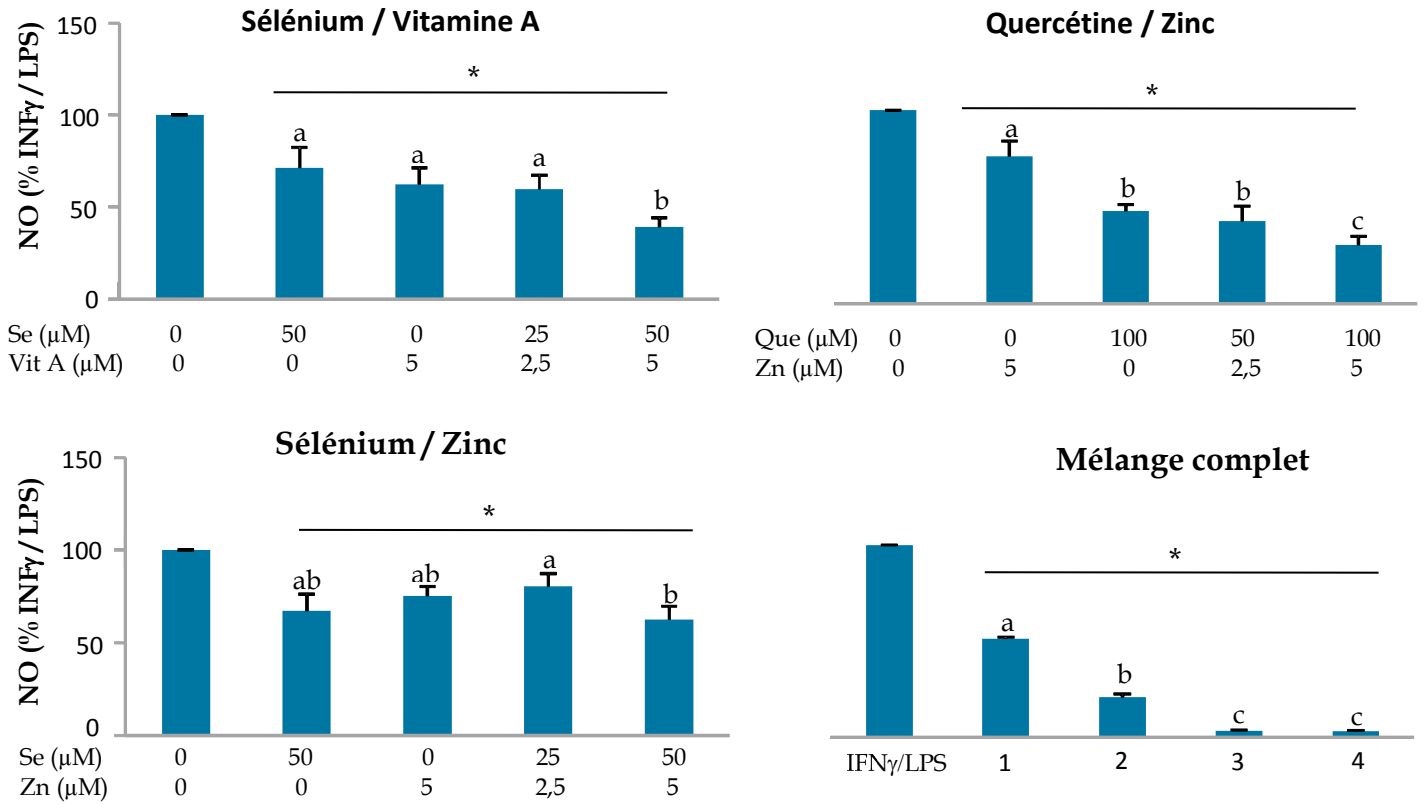


Figure IV: Concentration de NO après 24h de traitement avec une solution d'IFNγ/LPS et en co-traitement avec les différents micronutriments.

Les résultats sont les moyennes obtenues à partir de 3 expérimentations distinctes pour lesquelles chaque condition était réalisée en 4 répétitions et exprimés en pourcentage de la valeur du traitement IFNγ/LPS seul ± SE. * P<0.05 *vs* cellules traitées avec la solution de IFNγ/LPS seule, test de Fisher. a, b, c : les lettres qui diffèrent indiquent des moyennes significativement différentes (P<0,05, test de Fisher). Pour le mélange complet la composition des quatre mélanges est donnée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Concentrations des micronutriments dans les différents mélanges testés.

	Que (µM)	Zn (µM)	Se (µM)	Vit A (µM)	Vit E (µM)	Vit D (nM)
Combinaison 1	10	2,5	25	2,5	25	50
Combinaison 2	25	5	50	5	50	100
Combinaison 3	50	10	75	10	100	150
Combinaison 4	100	20	150	20	200	200

d'avoir une idée des différentes interactions qui existent entre les micronutriments testés.

Si les combinaisons de tous les micronutriments deux à deux ont été testées, seuls quelques exemples de résultats représentatifs des différentes interactions observées sont présentés dans la **Figure IV**. Parmi ces exemples, on note une addition des effets de la vitamine A et du sélénium. En effet, à concentrations égales (50 µM pour le sélénium et 5 µM pour la vitamine A), l'inhibition de la production de NO est plus importante quand les composés sont apportés en même temps plutôt que séparément et une inhibition équivalente est observée pour des concentrations de sélénium et de vitamine A divisées par deux. Il y a donc un phénomène d'addition, tout comme pour le zinc et la quercétine. L'addition des effets du zinc et de la quercétine pourrait s'expliquer par la capacité des flavonoïdes à former des complexes avec certains métaux dont l'activité biologique est supérieure à celle du flavonoïde seul. Il a notamment été montré que le pouvoir antioxydant du complexe rutine/zinc était supérieur à celui de la rutine seule *(Ikeda et al., 2015)*. Au vu de la proximité de structure de la quercétine et la rutine, il semble probable qu'il en soit de même avec la quercétine.

En revanche, dans le cas du zinc et du sélénium, l'effet inhibiteur du mélange zinc/sélénium est identique à celui du zinc et du sélénium pris séparément pour des concentrations identiques. Ces résultats suggèrent qu'ils agissent sur les mêmes voies et qu'il pourrait donc exister une compétition entre ces deux micronutriments. On sait par exemple qu'ils sont tous les deux capables de stimuler l'activité de la GPx *(Zhu et al., 2013 ; Kim et al., 2014)*.

Pour le mélange pris au complet, on constate un effet additif de tous les micronutriments, voire une synergie, puisqu'en association, les micronutriments permettent d'atteindre une inhibition de la production de NO quasiment totale à des concentrations très inférieures à celles utilisées seuls.

Bien sûr, ces résultats restent ceux d'un modèle *in vitro* et l'on sait que des interactions entre les micronutriments peuvent avoir lieu dès l'absorption intestinale, ou qu'il peut exister une compétition pour certaines protéines de transport. Les expérimentations *in vitro* ne rendent donc pas compte de l'ensemble des interactions possibles. Ceci pourrait expliquer le fait que l'association entre le sélénium et la vitamine E, pourtant très étudiée dans la littérature (voir Chapitre III, paragraphe 7., p.63), n'ait pas montré de bénéfices sur la production de NO par les cellules C2C12. De plus, les interactions observées dans cette étude pourraient être modulées *in vivo*. Par exemple, chez le rat, il a été montré que la co-ingestion de zinc et de sélénium

augmentait leur rétention *(Chmielnicka et al., 1988)*, et d'autres auteurs ont montré qu'ils réduisaient mutuellement leur l'absorption *(House and Welch, 1989)*.

3.5. Conclusion

Ces différentes expérimentations ont donc permis de mettre en évidence au niveau musculaire le potentiel anti-inflammatoire des micronutriments, qui, à l'exception de la vitamine D, ont tous été capables d'inhiber la production de NO par les cellules C2C12. De plus, elles confirment l'intérêt d'une supplémentation avec une combinaison de plusieurs micronutriments qui permet d'atteindre une inhibition très efficace de l'inflammation en limitant les doses utilisées, soulignant le fait que l'activité de chaque micronutriment est dépendante des autres micronutriments avec lesquels il est apporté et donc qu'aucun ne doit être considéré isolément.

Malgré ces résultats encourageants, du fait de la difficulté à induire une production de NO suffisante de façon systématique, nous avons renoncé à mettre au point la mesure de synthèse protéique *in vitro*. Entre le coût de ces mesures, les problèmes de disponibilité de la plate-forme de spectrométrie de masse impliquées dans les dosages et la proportion d'expérience inexploitables du fait d'une induction insuffisante de l'inflammation, les probabilités de réussite nous paraissaient trop faibles.

De plus, le retard occasionné par la mise au point de l'induction de l'inflammation nous a permis d'obtenir les premiers résultats de l'expérimentation *in vivo* en parallèle. Or, ces résultats ont montré que l'inflammation semblait jouer un rôle mineur dans l'altération du métabolisme protéique musculaire à la suite d'un régime riche en sucre. Par conséquent, l'évaluation de l'effet des micronutriments sur la synthèse protéique nous semblait moins pertinente dans le contexte de notre étude.

PUBLICATION N°2

Effect of high chronic intake of sucrose on liver metabolism in aging rats. Modulation by rutin and other micronutrients

Cette deuxième publication s'est concentrée sur les résultats obtenus dans le foie, en termes de métabolisme protéique et lipidique. Si les effets d'un régime riche en fructose sur le métabolisme lipidique hépatique sont déjà bien caractérisés dans la littérature, ils ne le sont pas chez l'âgé. Quant aux effets sur le métabolisme protéique, ils ne sont connus ni chez l'âgé ni chez l'adulte. Afin de simplifier la présentation des résultats, dans la mesure où cela n'apportait pas d'informations supplémentaires, dans cette seconde publication, seuls les résultats obtenus chez les rats à l'état post-absorptif ont été décrits.

Le régime saccharose a induit chez les rats âgés, une augmentation du poids des foies et de leur teneur en lipides totaux et triglycérides à l'état post-absorptif. La concentration en triglycérides a augmenté également au niveau plasmatique, tout comme celle de VLDL cholestérol. En revanche, le régime saccharose n'a pas eu d'effet sur le cholestérol total ni sur le HDL et LDL cholestérol. La supplémentation en micronutriments a permis de prévenir l'augmentation de la teneur hépatique en triglycérides et a engendré une augmentation du cholestérol total et du HDL cholestérol.

L'étude des enzymes de la lipogenèse a montré que les activités de la FAS et de l'ACLY n'ont pas été modifiées significativement par le régime saccharose. Cependant, l'activité de l'ACLY était quasiment deux fois plus élevée chez les rats nourris avec le régime saccharose que chez les rats témoins, et une augmentation du nombre de rats suffit à rendre cette différence significative puisque lorsque les rats à l'état postprandial sont inclus à l'analyse statistique, un effet significatif du sucre est détecté (P=0,03). Le régime riche en saccharose pourrait donc induire une augmentation de la lipogenèse, qui expliquerait en partie l'augmentation des triglycérides hépatiques et plasmatiques. D'autre part, l'activité de la FAS était significativement plus faible chez les rats supplémentés en micronutriments. La supplémentation en micronutriment semble donc capable de moduler la synthèse lipidique en réduisant l'activité de la FAS, mais également en agissant sur l'activité de l'ACLY. En effet, chez les rats nourris avec le régime saccharose supplémenté en micronutriments, l'activité de l'ACLY était similaire à celle mesurée chez les rats nourris avec le régime témoin. Comme pour l'effet du sucre, lorsque les rats à l'état postprandial sont inclus, l'analyse statistique met en évidence un effet significatif de

la supplémentation (P=0,005) et une interaction sucre x supplémentation (0,022). Les micronutriments pourraient donc prévenir l'augmentation de l'activité de l'ACLY induite par le régime riche en saccharose.

Concernant les enzymes de la β-oxydation, l'activité de l'ACOX était plus faible chez les rats nourris avec le régime saccharose tandis que l'activité de la CPT était équivalente. Aucun n'effet de la supplémentation n'a été observé sur ces deux enzyme. Le régime riche en saccharose pourrait donc à la fois augmenter la synthèse et l'oxydation des lipides, alors que la supplémentation en micronutriment semble agir préférentiellement sur la β-oxydation. De manière inattendue, le régime riche en fructose n'a pas modifié l'activité de la fructokinase.

Concernant le métabolisme protéique, le régime saccharose a induit une augmentation de la synthèse protéique (ASR) à l'état post-absorptif, ce qui se traduit par une augmentation du contenu hépatique protéique total. Cette augmentation de la synthèse protéique hépatique pourrait être liée à une augmentation de l'activité métabolique dans ce tissu (poids augmenté). Ces résultats sont en accord avec l'augmentation de synthèse protéique hépatique observée chez des rats Zucker obèses chez lesquels des mécanismes similaires pourraient être mis en jeu. De plus, une synthèse accrue de protéines de la réaction inflammatoire peut également expliquer une augmentation de synthèse protéique hépatique, comme cela a été vu chez des rats soumis à une inflammation à bas bruit.

L'inflammation, le stress oxydant et la glycation des protéines ont été peu modifiés par le type de régime puisque seule l'activité de la SOD a été augmentée par le régime saccharose.

Ainsi, au niveau hépatique, le régime riche en saccharose a induit une stimulation de la synthèse protéique, sans doute liée à une activité métabolique accrue dans ce tissu. L'augmentation de la teneur en triglycérides plasmatiques et hépatiques induits par le régime saccharose et prévenue par la supplémentation en micronutriments s'explique par un effet du sucre à la fois sur la lipogenèse et sur la β-oxydation et un effet des micronutriments sur la lipogenèse.

Effect of high chronic intake of sucrose on liver metabolism in aging rats. Modulation by rutin and other micronutrients

GATINEAU Eva[a,b], Frédéric CAPEL[a,b], Dominique DARDEVET[a,b], Jérémie DAVID[a,b], Corinne POUYET[a,b], Sergio POLAKOF[a,b], Laurent MOSONI[a,b].

a: INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle, France
b: Univ Clermont 1, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000 Clermont-Ferrand, France

* Address for correspondence: Laurent Mosoni ; Unité de Nutrition Humaine, INRA, Centre de Clermont-Ferrand – Theix, 63122 Theix, France; Tel : +33 4 73 62 48 27 ; Fax : +33 4 73 62 47 55 ; email : laurent.mosoni@clermont.inra.fr

Running title: Effect of high sucrose diet in liver of aging rats

Key words: fructose – polyphenols – liver – protein synthesis –lipogenesis – β-oxidation

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effect of a high sucrose diet in liver of aging rats, and potential benefices of a rutin, zinc, selenium, vitamins A, E and D supplementation. Four groups of 16 month-old male rats were fed during five months with a diet containing either 13% or 62% sucrose (all wheat starch was replaced with sucrose), supplemented or not with rutin (5 g / kg diet), vitamin E (~4x), A (2x), D (5x), selenium (~10x) and zinc (+44%). We followed body weight and food intake, and we measured liver composition (total lipid, triglyceride, glycogen, protein), hepatic oxidative stress (SOD activity, glutathione content, antioxidant capacity, carboxy-methyl lysine content), hepatic enzymatic activities (lipogenesis, β-oxidation, fructokinase), *in vivo* liver protein synthesis rates and various plasma parameters (lipid profile, aminotransferases, uric acid, TNF-α). The main effects of the high sucrose intake were an increase in liver lipid and triglyceride content, an increase in plasma triglycerides and VLDL, and a stimulation of post-absorptive liver protein synthesis rates. Inflammation and oxidative stress remained moderate. Micronutrient supplementation limited liver lipid infiltration. The evolutions in liver lipid content were in line with variations in fatty acid synthase, acyl coA oxidase and possibly ATP citrate lyase activities. In conclusion, aging induced only moderate differences in the effects of high sucrose diet on hepatic metabolism. Rutin and other micronutrients were still able to limit liver lipid infiltration.

INTRODUCTION

Since the 50s, added sugar consumption has been steadily increasing in all developed countries. This high intake of added sugars is thought to be responsible for many metabolic disorders including insulin resistance, dyslipidemia, hypertension, oxidative stress, inflammation and nonalcoholic fatty liver disease [1, 2]. Fructose is playing a central role in this phenomenon. It triggers an increase in liver and plasma lipid content leading to insulin resistance, and then, to all the other described disturbances [3]. The introduction in the 70s of high fructose corn syrups (mainly in soft drinks) boosted fructose consumption, which is now estimated at 10% of total energy intake [2].

Many studies were performed to analyze the consequences of added sugar or fructose intake. Most of these studies were performed in young animals or in adults. However, the proportion of elderly subjects increases in all countries. Since the 50s, it is likely that strong sugar consumers are getting into old age. Is it safe to superimpose the effects of aging with the effects of a high added sugar intake? For instance, we showed recently that a high sucrose intake was able to accelerate sarcopenia in old rats [4]. In particular, liver seems to be the first target of high fructose intake, and it was shown that aging can also lead to dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease [5]. To our knowledge, the combined effects of high added sugar intake and aging on liver metabolism were not studied previously.

In addition, it was shown that polyphenols are able to prevent the deleterious metabolic effects of added sugars [6-8]. We also showed previously that a mixture of rutin, vitamins and trace elements had positive effects in muscle of old rats [9]. Thus,

we wanted to test the capacity of such a mixture to prevent the deleterious metabolic effects of added sugars in livers of old rats.

Thus, we fed 16 month-old Wistar rats during 5 months with a control diet, supplemented or not with a mixture of rutin, zinc, selenium, vitamins A, E and D, or with a diet in which starch was replaced by sucrose, supplemented with the same micronutrients or not. For 5 months, we followed the evolution of body weight and food intake, and after 5 months, we compared in each group liver mass and protein, glycogen and lipid content. We also assessed plasma lipid profiles and activities of enzymes involved in de novo lipogenesis and lipid oxidation, as well as *in vivo* liver protein synthesis rates, plasma aminotransferase and markers of inflammation and oxidative stress / glycation.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diet

This experiment was conducted in accordance with institutional guidelines on animal experimentation in France and was approved by the Ethics Committee in Animal Experiment CEMEA Auvergne (registration number: CE 56-12). Male 16 month-old Wistar rats (n=60) (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were housed under controlled environmental conditions (21°C, 55% hygrometry, 12-h dark period starting at 07:00) and were allowed free access to water and food (standard pellets, UAR 04, UAR, Villemoisson sur Orge, France). After one month of acclimation, animals were randomly divided into four groups (n=15 per group) and were fed four different diets as dry powders: Control rats (Ct) were fed a control diet (AIN 93) [10]; Control rats supplemented (CtS) rats were fed the same diet supplemented with

rutin (5 g / kg dry matter in substitution with cellulose), vitamin E (all-rac-a-tocopherol acetate, 500 IU / g, 60 g / kg vitamin mixture instead of 14.2), A (all-trans-retinyl palmitate, 500,000 IU/g, 1.6 g / kg vitamin mixture instead of 0.8), D (cholecalciferol-D, 500,000 IU / kg vitamin mixture instead of 100,000), selenium (sodium selenite anhydrous, 0.14 g / kg mineral mixture instead of 0.01025) and zinc (zinc carbonate, 2.95 g / kg mineral mixture instead of 1.65); treated rats (Tr) were fed the control diet in which wheat starch was replaced by sucrose; treated rats supplemented (TrS) rats were fed this sucrose diet supplemented with the same micronutrients. Food was freely available between 08:30 and 16:00 every day. During the first two months, rats ate ad libitum, then, due to small differences in food intake, the amount of food offered was adjusted to ~22 g/ day in all groups. Food intake was monitored every 2 to 3 days during the first two months, and then every day. Body weight was measured once a week.

On the fifth month of experiment, *in vivo* liver protein synthesis rates were measured in the post-absorptive state after overnight food deprivation.

Final number of rats in each group was: Ct: n=10; CtS: n=9; Tr: n=9; TrS: n=9.

Liver protein metabolism

Liver protein synthesis rates were measured using the flooding dose method. Twenty minutes before euthanasia, each rat was injected intravenously with L-valine (150 µmol/100 g body weight) containing 80% of L-[1-13C] valine (Euriso-Top, Saint Aubin, France) to flood the precursor pool. Rats were then euthanized under pentobarbital sodium anaesthesia (6mg/100 g body weight) by exsanguination through abdominal aorta. Liver was quickly excised, rinsed in cold 9‰ NaCl, dried,

weighted, and frozen in liquid nitrogen until further analysis. It was grinded in liquid nitrogen in a ball mill (Dangoumeau, Prolabo, Paris, France) and aliquots of the frozen powder were used for analyzes. *In vivo* liver synthesis rates were measured as described previously [11] by measuring liver free and protein bound valine enrichments, and protein extraction with trichloroacetic acid. Protein content was determined according to Smith et al. (1985) [12]. We calculated fractional synthesis rates, FSR = 100 × (EP-EN)/(EA × t) where t is incorporation time, expressed in days, EP and EA (atom %) are 13C enrichments of protein-bound valine and of liver free valine respectively. EN (atom %) is an estimation of the natural 13C enrichment of protein-bound valine that was determined in rats that were not injected with the flooding dose (2 to 3 per group). We also calculated absolute synthesis rates (ASR, g per day) from the product of FSR with protein content.

Plasma measurements

Plasma aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities, as well as cholesterol, triglyceride, lipoproteins (HDL, LDL, VLDL) and uric acid levels were measured by spectrophotometry on an automated chemistry analyzer (ABX Pentra 400, Horiba, Montpellier, France) using kits from ABX Pentra. Plasma TNF-α concentration was measured by ELISA (R&D Systems, Abingdon, UK).

Liver oxidative status

All analyzes were performed by spectrophotometry on ABX Pentra. Total glutathione content (reduced + oxidized) was determined as previously described by Malmezat et al. [13], SOD activity was measured using RANSOD kit (Randox

laboratories, Montpellier, France) after homogenization of an aliquot of frozen liver powder in SD124 buffer of the kit (Phosphate buffer) and centrifugation. Total antioxidant capacity was measured in an aliquot of this supernatant using TAS kit (Randox laboratories, Montpellier, France).

Western Blot analysis of liver carboxy-methyl lysine content

A hundred mg of frozen liver powder was homogenized in 1 mL of ice-cold Tris buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.8, 1% Triton X-100) with an Ultra Turax homogenizer, and centrifuged at 10,000 g at 4°C for 15 min. Thirty µg of protein from the supernatant were submitted to SDS-Page on precast polyacrylamide gel (any Kd, Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, France) and transferred to a 0.2 µm nitrocellulose membrane (Bio-Rad laboratories). Unspecific binding was blocked by incubation with 5% Bovine Serum Albumin (BSA) in Phosphate Buffer Saline - 0.1% Tween (PBS-T) for 1h at room temperature. Then, membranes were incubated overnight at 4°C with anti-carboxy-methyl lysine mouse antibody (1µg/ml) (R&D Systems, Abingdon, UK) in PBS-T containing 5% BSA. After removal of primary antibody, membranes were incubated for 1h at room temperature with anti-mouse IRDye® 680 secondary antibody (0.1µg/ml) (Eurobio, Courtaboeuf, France). The resulting fluorescent signal was scanned using the Odyssey infrared imaging system (Li-Cor, Lincoln, US). The actual amount of protein was estimated in each lane by fluorescence using G:Box (Syngene, Frederick, MD, USA) after UV induced reaction between trihalo compounds and tryptophan residues of proteins and was used to normalize the values

Liver glycogen and lipid content

Liver glycogen content was measured by grinding an aliquot of liver frozen powder in 6% perchloric acid, neutralization with 0.9 M K_2CO_3, centrifugation, and measurement of glucose content (Horiba kit for ABX Pentra) in the supernatant with and without incubation with amyloglucosidase (2h at 40°C). Glycogen content was measured by difference as µmoles glucose equivalent / g tissue.

Liver total lipid content was measured by weighing lipid extracted by Folch method [14]. The amount of triglycerides in these extracted lipids was measured using Diasys kit (Holzheim,Germany).

Liver enzymes activities

The enzymatic activities of ATP-citrate lyase (ACLY, EC 4.1.3.8), fatty acid synthase (FAS, EC 2.3.1.85), fructokinase (FK, EC 2.7.1.3), acyl-CoA oxidase (ACOX, EC 1.3.99.3) and carnitine palmitoyltransferase (CPT, EC 2.3.1.21) were measured in the supernatants obtained after extraction (see Western Blot analysis section) according to previously described methods with slight modifications. Measurements were made at 30-37°C using an Infinite M200Pro spectrophotometer (Tecan, Lyon, France). We followed the rate of oxidation of NADH (Fructokinase activity: for 20 min [15]; ACLY activity: for 40 min [16], after 20 min of pre-incubation without coenzyme A) or the rate of oxidation of NADPH (FAS activity: for 1 h [17], after correction for background NADPH oxidation in the absence of malonyl-CoA) at 340 nm. ACOX activity was evaluated by measurement of H_2O_2 dependent oxidation of 2′,7′dichlorofluorescin diacetate during 10 min at 502 nm [18]. CPT activity was assayed by following the release of CoA-SH from palmitoyl-CoA for 15 min at 412

nm, using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) [19]. All enzymatic activities were calculated using a blank well with substrate omitted and are expressed in µU / mg protein.

Statistical analysis

Data were analysed by 2-factors variance analysis (ANOVA), treatment (=T, starch or sucrose) x rutin, zinc, selenium, vitamins A, E and D (=S - with or without supplementation). Fisher test was used for post hoc comparisons of means. A repeated-time variance analysis was performed to compare the evolution of food intake and body weight over time between groups. We used SAS software. Data are expressed as means ± SEs. The level of significance was set at $P < 0.05$. a, b, c…: labeled means with a common letter differ.

RESULTS

Food intake, body weight

Although small differences in food intake were observed between groups during the first weeks, as soon as the amount of food offered was adjusted to 22 g per day, there was no more any difference. Thus, over the last three months, observed mean food intake was 20.6 ± 0.1 g. Per month, body weight was never significantly different between groups. Final body weights were: Ct: 517 ± 13g; CtS: 546 ± 22g; Tr: 561 ± 15g; TrS: 576 ± 25g. However, over time, body weight decreased, and this decrease was significantly lower (P=0.02) in sucrose fed rats (~-5.8%) than in starch fed rats (~-8.5%).

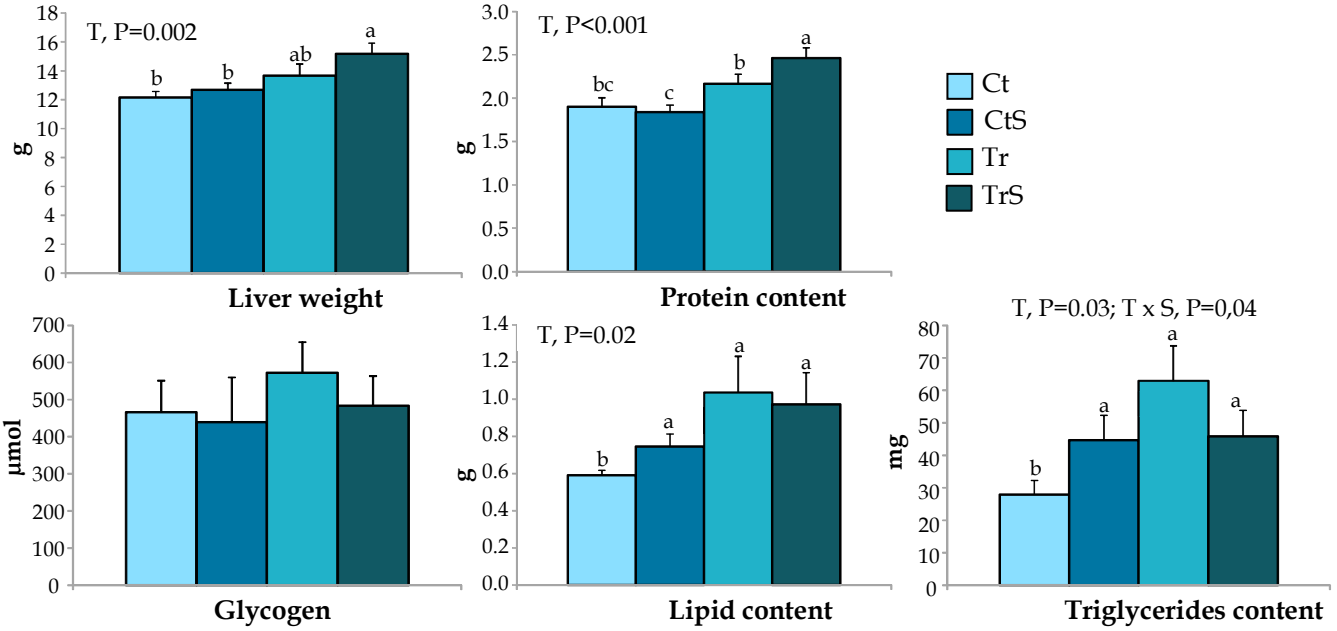


Figure 1: Liver weight and composition of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrient supplementation for 5 months.
Liver fresh weight and total protein, lipid, triglycerides and glycogen weights were measured in each group. Two-factor ANOVA, T x S were conducted and significant effects are given. Values are means ± SEs. Labeled means without a common letter (a, b,…) differ, P<0.05. Ct, control rats; CtS, control rats supplemented with micronutrients; S, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium and Zinc supplementation; T, treatment with sucrose; Tr, treated rats (62% sucrose); TrS, treated rats supplemented with micronutrients.

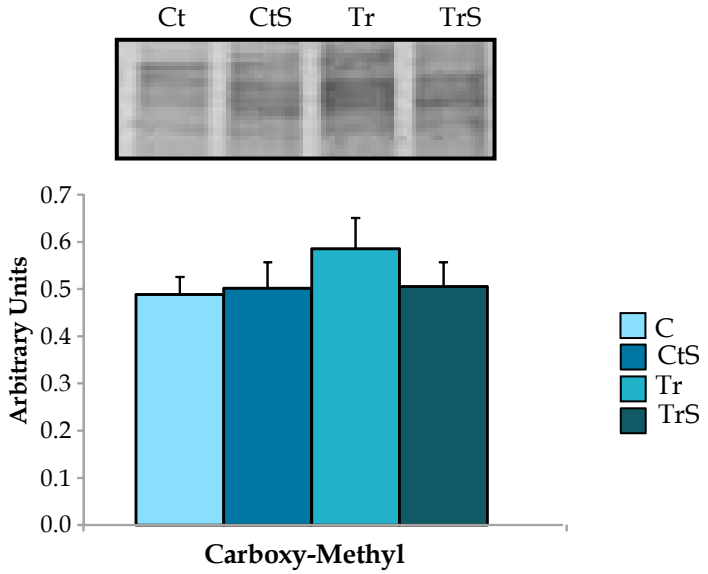


Figure 2: Liver carboxy-methyl lysine content of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrient supplementation for 5 months. A representative blot is shown, and mean values ± SEs obtained in each groups are given in histograms. Two-factor ANOVA, T x S were conducted and significant effects are given. Values are means ± SEs. Labeled means without a common letter (a, b,…) differ, P<0.05. Ct, control rats; CtS, control rats supplemented with micronutrients; S, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium and Zinc supplementation; T, treatment with sucrose; Tr, treated rats (62% sucrose); TrS, treated rats supplemented with micronutrients.

Liver weight and lipid, glycogen and protein content

Sucrose feeding induced a significant increase in liver weight (Figure 1). This increase was most likely due to an increase in protein and lipid weights (including triglycerides), but not in glycogen weight, which remained unchanged by sucrose feeding (Figure 1). Micronutrient supplementation had no effect on liver weight, and on protein, lipid and glycogen contents (Figure 1). However, the effect of supplementation on liver triglyceride content was significantly different in starch (increase) and in sucrose (decrease) fed rats (Figure 1).

Regarding liver composition (data are not shown but can be estimated from Figure 1), protein (g / g liver) and glycogen (mmol / g liver) concentration remained unchanged whatever the group. Lipid concentration (mg / g liver) was significantly increased by sucrose feeding (P=0.03), and unchanged by supplementation. Regarding triglyceride concentration (mg / g liver), the only significant effect was a T x S interaction (P=0.01), similar to what was observed for total triglyceride content.

Liver oxidative status and carboxy-methyl lysine content

Sucrose feeding triggered an increase in liver SOD activity (P= 0.03), with no effect of supplementation (mean values, in U / mg prot: Ct: 18.5^{a} ± 1.0; CtS: 21.4^{ab} ± 1.7; Tr: 23.8^{b} ± 1.5; TrS: 22.5^{b} ± 1.3). However, liver total antioxidant capacity (overall mean value: 1.20 ± 0.04 mmol / g prot), total glutathione content (overall mean value: 90 ± 4 µmoles), and glutathione concentration (overall mean value: 6.7 ± 0.2 µmoles / g liver) were not different between groups.

An index of the glycation of liver soluble proteins, carboxy-methyl lysine, was measured. It remained unchanged whatever the group (Figure 2).

Table 1 Plasma parameters of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrient supplementation for 5 months.

	Ct	CtS	Tr	TrS	ANOVA[1]
Total cholesterol, *mg/dl*	109 ± 5[a]	123 ± 5[ab]	114 ± 10[a]	118 ± 6[b]	S, P=0.04
HDL cholesterol, *mg/dl*	31.0 ± 1.6[b]	33.6 ± 1.2[ab]	30.8 ± 1.7[b]	36.3 ± 1.9[a]	S, P=0.02
LDL cholesterol, *mg/dl*	18.3 ± 1.7	18.1 ± 0.9	15.5 ± 1.3	17.5 ± 1.4	ns
VLDL cholesterol, *mg/dl*	8.4 ± 1.0[b]	8.9 ± 1.0[ab]	10.2 ± 1.4[ab]	12.4 ± 1.4[a]	T, P=0.05
Triglycerides, *mg/dl*	41.9 ± 5.0[b]	44.3 ± 4.9[ab]	50.9 ± 7.1[ab]	62.0 ± 6.9[a]	T, P=0.05
AST, *U/l*	227 ± 23[b]	255 ± 35[ab]	319 ± 39[a]	278 ± 17[ab]	T, P=0.055
ALT, *U/l*	53.1 ± 3.2	65.4 ± 6.5	66.0 ± 4.3	66.2 ± 4.3	ns
Uric acid, *mg/dl*	2.14 ± 0.16	2.03 ± 0.14	1.88 ± 0.14	1.90 ± 0.15	ns

Values are means ± SE. [1]ANOVA significant effects. a, b = Labeled means in a row without a common letter differ, P<0.05. ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; HDL = high density lipoprotein cholesterol; LDL = low density lipoprotein; ns = non-significant (P>0.05); S =supplementation with micronutrients; T = treatment with sucrose; VLDL = very low density lipoprotein.

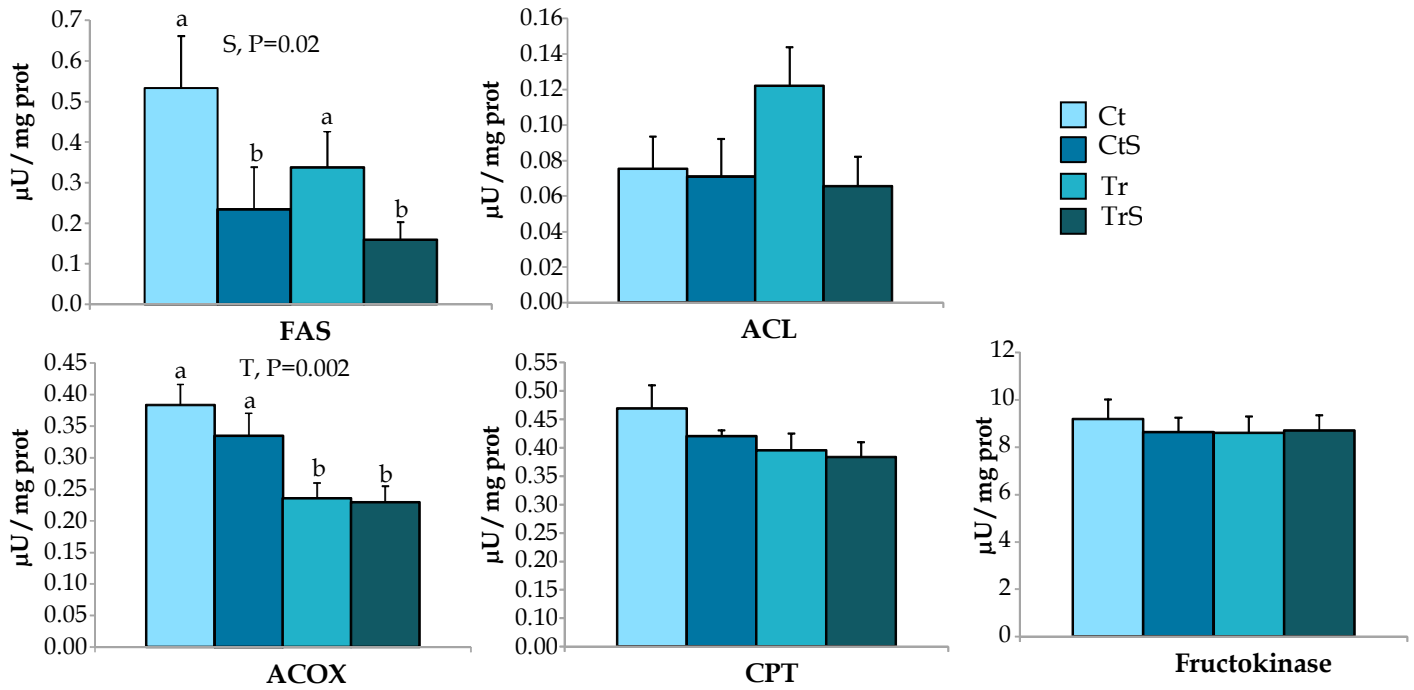


Figure 3: Liver enzymatic activities of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without R supplementation for 5 months.

Liver fatty acid synthase (lipogenesis), ATP citrate lyase (lipogenesis), acyl coA synthase (peroxisomal β-oxidation), carnitine palmitoyl transferase (mitochondrial β-oxidation) and fructokinase activities were measured in each group. Two-factor ANOVA, C x R supplementation were conducted and significant effects are given. Values are means ± SEs. Labeled means without a common letter (a, b,…) differ, P<0.05. ACLY, ATP citrate lyase; ACOX, acyl coA synthase; C, carbohydrate; CPT, carnitine palmitoyl transferase; Ct, control rats; CtS, control rats supplemented with R; FAS, fatty acid synthase ; R, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium and Zinc; Tr, treated rats (62% sucrose); Tr, treated rats supplemented with R.

Plasma parameters

Among plasma lipids, VLDL cholesterol and triglycerides were significantly affected only by sucrose feeding (Table 1 - mean values were higher in sucrose fed rats than in starch fed rats) and total cholesterol and HDL cholesterol were significantly affected only by supplementation (Table 1 - mean values were higher in supplemented rats than in not supplemented rats). LDL cholesterol remained similar in all groups (Table 1).

ALT values were not affected by nutritional treatments, and AST values tended to increase (P=0.055) in sucrose fed rats (Table 1).

Uric acid values were not different between groups (Table 1).

In all groups, plasma TNF-α was undetectable.

Liver enzymes activities

Liver FAS activity was unchanged by sucrose feeding, but was significantly reduced by supplementation (Figure 3). ACLY activity was almost doubled in Tr rats compared to all other groups (Figure 3), although no significant effects were detected by variance analysis (T, P=0.3; S, P=0.13; T x S, P=0.19). It is likely that significant effects of sucrose feeding and significant T x S interaction would have been detected with a higher number of rats per group. ACOX was significantly lower in sucrose fed rats than in starch fed rats (Figure 3). There was no effect of supplementation. No significant effects were detected for liver CPT activity and for fructokinase activity (Figure 3).

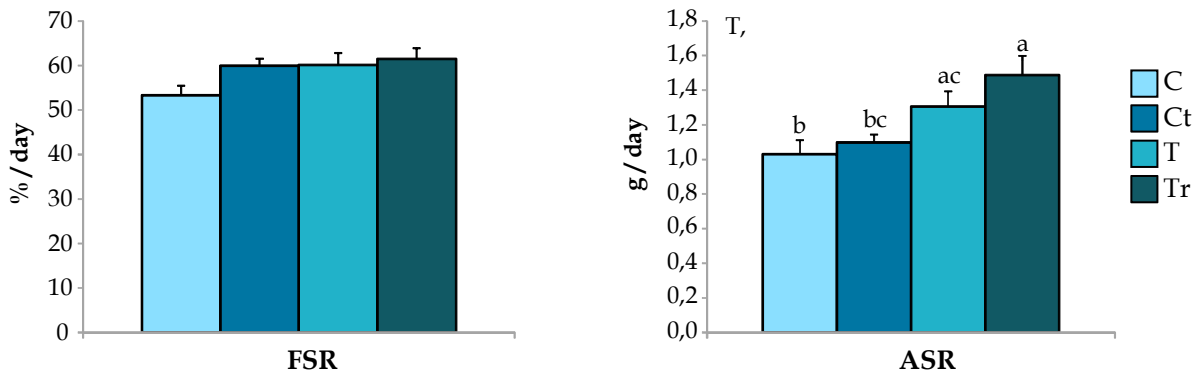


Figure 4: Liver protein synthesis rates of older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrient supplementation for 5 months.

Two-factor ANOVA, T x S were conducted and significant effects are given. Values are means ± SEs. Labeled means without a common letter (a, b,…) differ, P<0.05. ASR, absolute synthesis rates; Ct, control rats; CtS, control rats supplemented with micronutrients; FSR, fractional synthesis rates; S, rutin, vitamin E, vitamin A, vitamin D, selenium and Zinc supplementation; T, treatment with sucrose; Tr, treated rats (62% sucrose); TrS, treated rats supplemented with micronutrients.

Protein synthesis

There were tendencies for an increase in liver protein FSR in sucrose fed rats (P=0.07) and in supplemented rats (P=0.09) (Figure 4). Since FSR represents the proportion of total protein that are synthesized per day (% / day), in situations where total protein mass increases, FSR should decrease. And total liver protein mass did increase in response to sucrose feeding (see above). Thus, the fact that FSR tended to increase in response to sucrose feeding suggests that there was a stimulation of liver protein synthesis above normal. This is confirmed when using ASR (g protein synthesized per day) as a marker of liver protein synthesis rates: ASR were significantly increased in sucrose fed rats (Figure 4), and there was no significant effect of supplementation (P=0.14) and no significant T x S interaction (P=0.49).

DISCUSSION

The purpose of this study was to examine the effect of a high sucrose diet in liver of old rats, and potential benefices of a rutin, zinc, selenium, vitamins A, E and D supplementation. Many studies investigated consequences of a high sucrose diet in liver, but very few used old rats.

The major effect of the high sucrose diet was an increase in liver lipid content (+76%), and in particular in triglyceride content (+126%). Such an increase in liver triglyceride content had already been described in young Wistar rats [20, 21]. An increase in liver triglyceride content in response to high fructose intake is considered as a key event in subsequent deleterious effects of fructose [22], or at list is parallel to pathophysiological developments [23]. Aging per se can also lead to an increase in

liver triglyceride content [5]. The combined action of aging and high sucrose diet could thus lead to a high accumulation of triglycerides in liver [24].

After ingestion, sucrose is split into glucose and fructose, and fructose can be partly metabolized into lactate, glucose or fatty acid within the enterocyte [2]. The remaining fructose is then efficiently transported into the liver. In this tissue, the first step of its utilization (which can ultimately lead to fatty acid synthesis) is its conversion into fructose-1-P by fructokinase. It is classical to observe an increase in fructokinase activity after a high sucrose or fructose diet [25]. It is thus surprising that we found no differences between groups. To our knowledge, no studies analyzed the inductility of fructokinase in old rats. Fructokinase activity was shown to be unchanged between 3 and 30 months in mice [26], thus may be the activity present in the tissue was sufficient to metabolize all the ingested fructose whatever the group.

The level of fatty acids in the liver is dependent from de novo lipogenesis, fatty acid oxidation, and exchanges with the plasma (secretion and uptake). In our experiment, a high plasma VLDL content (the triglyceride rich lipoprotein) and a normal HDL content in sucrose fed rats could suggest a higher secretion than uptake of fatty acids from liver. We also measured the activity of two enzymes involved in lipogenesis, FAS, and ACLY, and two enzymes involved in fatty acid oxidation, ACOX (peroxisomal β-oxidation), and CPT (mitochondrial β-oxidation).

FAS was thought to be essentially involved in *de novo* lipogenesis, but an unexpected role for FAS as a signaling enzyme able to trigger fatty acid oxidation has emerged [27]. However, an increased de novo lipogenesis was observed in many studies in

sucrose fed rats, and in most cases, studies reported an elevation in FAS activity and expression [28-30]. During aging, the expression of FAS in rodent's liver was shown to be unchanged [31] or markedly reduced [32]. In this publication, we showed that the combination of high sucrose diet and aging did not change FAS activity compared with simple aging.

ACLY is responsible for the synthesis of acetyl-coA, allowing fatty acid synthesis, cholesterogenesis, and / or histone acetylation. An increased ACLY activity has been associated with nonalcoholic fatty liver disease [33]. Expression of ACLY was shown to increase in sucrose fed rats [29]. In cultured hepatocytes, uric acid addition (as a model of high sucrose feeding) led to an activation of ACLY [34]. The activity of ACLY was shown to decrease during aging [35, 36]. Although our results were not significant, the major increase in ACLY activity in high sucrose fed rats suggests that this enzyme was involved in the observed increase in liver fatty acid content in these rats.

ACOX is regarded to be the main enzymatic step controlling the flux through the peroxisomal β-oxidation pathway [37]. The activity of the peroxisomal β-oxidation and the expression of ACOX were shown to decrease in response to fructose feeding [38]. ACOX protein level and expression were also found to decrease during aging in liver [39]. We showed that ACOX activity could still be reduced in response to high sucrose diet in old rats.

CPT, a key enzyme in the oxidation of fatty acids in the mitochondria, was also shown to be reduced in response to fructose intake [38, 40]. During aging, there was

no change in liver CPT activity and expression [41, 42]. Our results showed that high fructose intake in addition to aging did not have any effect.

During aging, it could be expected that enzymes would be less inducible than in young or adult life. In the present experiment, this may explain why, in response to high sucrose diet, FAS activity did not increase, and CPT activity was not reduced. Finally, in our experiment, the marked increase in liver lipid content was in line with the observed non-significant increase in ACLY activity, and the decrease in ACOX activity (which seems also an important factor in aging induced increase in liver lipid content).

Another effect of high sucrose intake was a stimulation of post-absorptive liver protein synthesis rates. Liver mass and protein weight were also increased, suggesting an increase in liver general metabolism. To our knowledge, no other studies analyzed the effect of long-term high sucrose or high fructose feeding on liver protein synthesis rates, whatever the age. The effect of high sucrose diet in liver can be compared with the effect of inflammation. It is well known that inflammation stimulates liver protein metabolism (synthesis of acute phase proteins), and in particular, it was shown that even low grade inflammation, in old rats, can stimulate liver protein synthesis rates [43]. In our model, as shown by measurements of plasma TNFα inflammation was low. Oxidative stress was also low (no change in liver glutathione content, antioxidant capacity, carboxy-methyl lysine content, but stimulation of SOD activity). However, inflammation and oxidative stress are often present during long-term high fructose or sucrose feeding [44, 45]. Thus, it is possible

that the stimulation of liver protein synthesis observed corresponds to a higher metabolic activity in liver, due to lipid handling and mild inflammation.

In this experiment, our aim was also to test the capacity of a supplementation with rutin, vitamins E, A, D, zinc and selenium to prevent the deleterious effects of the high sucrose diet. The main deleterious impact of fructose in the present study was the hepatic lipid accumulation, and we showed that our micronutrients supplementation was able to reduce significantly its severity. This effect seemed mediated by a decrease in FAS activity and a possible normalization of ACLY activity, and occurred despite an increase in plasma HDL concentration (suggestive of an increased return of fatty acids to the liver). Since oxidative stress was limited in our experiment, we can postulate that the positive effects observed were not mediated by anti-oxidant effects. However, vitamin A is also able to regulate the expression of several genes involved in hepatic glucose and fatty acid metabolism [46] Similarly, vitamin D deficiency could be involved in the development of non-alcoholic fatty liver disease [47]. Zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E were shown to improve insulin sensitivity in fructose fed rats [48]. Finally, a protective effect of polyphenols against plasma and liver lipid accumulation is well established in young rats, and several studies already reported a beneficial impact of rutin [7, 8, 49, 50]. An increase in plasma HDL after rutin ingestion was also found [8]. Further, some of these effects could be mediated by a specific impact of rutin on the hepatic lipogenesis, by inhibiting FAS transcription *in vitro* [51] and FAS [52] and ACLY [53] activities *in vivo*. Thus, the capacity of rutin to control the expression and

activity of enzymes involved in lipogenesis seems well established, and the other included micronutrients could also have positive effects.

It is interesting to compare the effects of sucrose feeding and micronutrient supplementation in our experiment: FAS activity, only an effect of supplementation; ACLY activity, possibly an effect of both sucrose feeding and supplementation; ACOX activity: only an effect of sucrose feeding. It suggests that there are multiple pathways controlling the level of liver fatty acid accumulation and that sucrose and polyphenols may act independently on these different pathways. We could show that as in young rats, polyphenols are still active in old rats and able to prevent fructose-induced lipid accumulation in liver.

Finally, in our experiment, uric acid was not affected by sucrose feeding or supplementation. However, in young rats, high sucrose or high fructose feeding was often found to increase plasma uric acid [54]. Rutin was shown to be able to correct this hyperuricemia [55], but it was not always seen [8]. During aging, uric acid level was also found to increase [56]. In our experiment, it is possible that plasma uric acid increased with aging, and could not be further modulated, neither by high sucrose intake nor by rutin intake.

In conclusion, we showed that a high sucrose diet, given to old rats, led to a marked increase in liver lipid and triglyceride content, and to a stimulation of post-absorptive liver protein synthesis rates, as observed during mild inflammation. Compared to what is usually observed in young rats, we did not see an increase in FAS activity and a decrease in CPT activity in response to high sucrose diet, but we did see a decrease in ACOX activity, and possibly an increase in ACLY activity. As in

young rats, rutin was able to reduce the severity of liver lipid accumulation, through an inhibition of FAS activity, and possibly ACLY. Finally, aging induced moderate differences in the effects of diets high in sugar on hepatic metabolism.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Christophe Del'homme, Philippe Denis, Philippe Lhoste and Arlette Cissoire for animal management and Nordine Hafnaoui and Brigitte Laillet for technical assistance.

REFEENCES

[1] Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. Physiol Rev. 2010;90:23-46.
[2] Tappy L, Le KA. Does fructose consumption contribute to non-alcoholic fatty liver disease? Clin Res Hepatol Gastroenterol. 2012;36:554-60.
[3] Nomura K, Yamanouchi T. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. J Nutr Biochem. 2012;23:203-8.
[4] Gatineau E, Savary-Auzeloux I, Migne C, Polakof S, Dardevet D, Mosoni L. Chronic Intake of Sucrose Accelerates Sarcopenia in Older Male Rats through Alterations in Insulin Sensitivity and Muscle Protein Synthesis. J Nutr. 2015.
[5] Bertolotti M, Lonardo A, Mussi C, Baldelli E, Pellegrini E, Ballestri S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and aging: epidemiology to management. World J Gastroenterol. 2014;20:14185-204.
[6] Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R, Bastia T, Madhusudana K, et al. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. Pharmacol Res. 2012;66:260-8.
[7] Panchal SK, Poudyal H, Arumugam TV, Brown L. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. J Nutr. 2011;141:1062-9.
[8] Chuffa LG, Fioruci-Fontanelli BA, Bordon JG, Pires RB, Braga CP, Seiva FR, et al. Rutin ameliorates glycemic index, lipid profile and enzymatic activities in serum, heart and liver tissues of rats fed with a combination of hypercaloric diet and chronic ethanol consumption. Indian J Biochem Biophys. 2014;51:215-22.
[9] Marzani B, Balage M, Venien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D, et al. Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats. J Nutr. 2008;138:2205-11.
[10] Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993;123:1939-51.
[11] Mosoni L, Valluy MC, Serrurier B, Prugnaud J, Obled C, Guezennec CY, et al. Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. Am J Physiol. 1995;268:E328-35.
[12] Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem. 1985;150:76-85.
[13] Malmezat T, Breuille D, Pouyet C, Mirand PP, Obled C. Metabolism of cysteine is modified during the acute phase of sepsis in rats. J Nutr. 1998;128:97-105.
[14] Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem. 1957;226:497-509.
[15] Adelman RC, Spolter PD, Weinhouse S. Dietary and hormonal regulation of enzymes of fructose metabolism in rat liver. J Biol Chem. 1966;241:5467-72.
[16] Antranikian G, Herzberg C, Gottschalk G. Characterization of ATP citrate lyase from Chlorobium limicola. J Bacteriol. 1982;152:1284-7.
[17] Kelley DS, Nelson GJ, Hunt JE. Effect of prior nutritional status on the activity of lipogenic enzymes in primary monolayer cultures of rat hepatocytes. Biochem J. 1986;235:87-90.

[18] Small GM, Burdett K, Connock MJ. A sensitive spectrophotometric assay for peroxisomal acyl-CoA oxidase. Biochem J. 1985;227:205-10.
[19] Markwell MA, McGroarty EJ, Bieber LL, Tolbert NE. The subcellular distribution of carnitine acyltransferases in mammalian liver and kidney. A new peroxisomal enzyme. J Biol Chem. 1973;248:3426-32.
[20] Pagliassotti MJ, Prach PA, Koppenhafer TA, Pan DA. Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. Am J Physiol. 1996;271:R1319-26.
[21] Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, et al. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. J Nutr. 2009;139:2067-71.
[22] Lustig RH. Fructose: It's "Alcohol Without the Buzz". Advances in Nutrition: An International Review Journal. 2013;4:226-35.
[23] Bechmann LP, Hannivoort RA, Gerken G, Hotamisligil GS, Trauner M, Canbay A. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. J Hepatol. 2012;56:952-64.
[24] Hennebelle M, Roy M, St-Pierre V, Courchesne-Loyer A, Fortier M, Bouzier-Sore AK, et al. Energy restriction does not prevent insulin resistance but does prevent liver steatosis in aging rats on a Western-style diet. Nutrition. 2015;31:523-30.
[25] Shafrir E, Orevi M. Response of hepatic fructokinase to long-term sucrose diets and diabetes in spiny mice, albino mice and rats. Comp Biochem Physiol B. 1984;78:493-8.
[26] Hagopian K, Ramsey JJ, Weindruch R. Fructose metabolizing enzymes from mouse liver: influence of age and caloric restriction. Biochim Biophys Acta. 2005;1721:37-43.
[27] Jensen-Urstad AP, Semenkovich CF. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: housekeeper or messenger? Biochim Biophys Acta. 2012;1821:747-53.
[28] Bruckdorfer KR, Khan IH, Yudkin J. Fatty acid synthetase activity in the liver and adipose tissue of rats fed with various carbohydrates. Biochem J. 1972;129:439-46.
[29] Roncal-Jimenez CA, Lanaspa MA, Rivard CJ, Nakagawa T, Sanchez-Lozada LG, Jalal D, et al. Sucrose induces fatty liver and pancreatic inflammation in male breeder rats independent of excess energy intake. Metabolism. 2011;60:1259-70.
[30] Ferramosca A, Conte A, Damiano F, Siculella L, Zara V. Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diets on hepatic lipogenesis in rats. Eur J Nutr. 2014;53:1103-14.
[31] Zhao L, Zou X, Feng Z, Luo C, Liu J, Li H, et al. Evidence for association of mitochondrial metabolism alteration with lipid accumulation in aging rats. Exp Gerontol. 2014;56:3-12.
[32] Kuhla A, Hahn S, Butschkau A, Lange S, Wree A, Vollmar B. Lifelong caloric restriction reprograms hepatic fat metabolism in mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014;69:915-22.
[33] Chypre M, Zaidi N, Smans K. ATP-citrate lyase: a mini-review. Biochem Biophys Res Commun. 2012;422:1-4.
[34] Lanaspa MA, Sanchez-Lozada LG, Choi YJ, Cicerchi C, Kanbay M, Roncal-Jimenez CA, et al. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. J Biol Chem. 2012;287:40732-44.
[35] Barakat HA, Dohm GL, Shukla N, Marks RH, Kern M, Carpenter JW, et al. Influence of age and exercise training on lipid metabolism in Fischer-344 rats. J Appl Physiol (1985). 1989;67:1638-42.

[36] Vitorica J, Satrustegui J, Machado A. Metabolic implications of ageing: changes in activities of key lipogenic and gluconeogenic enzymes in the aged rat liver. Enzyme. 1981;26:144-52.
[37] Poirier Y, Antonenkov VD, Glumoff T, Hiltunen JK. Peroxisomal beta-oxidation--a metabolic pathway with multiple functions. Biochim Biophys Acta. 2006;1763:1413-26.
[38] Vila L, Rebollo A, Adalsteisson GS, Alegret M, Merlos M, Roglans N, et al. Reduction of liver fructokinase expression and improved hepatic inflammation and metabolism in liquid fructose-fed rats after atorvastatin treatment. Toxicol Appl Pharmacol. 2011;251:32-40.
[39] Yang L, Zhang Y, Wang S, Zhang W, Shi R. Decreased liver peroxisomal beta-oxidation accompanied by changes in brain fatty acid composition in aged rats. Neurol Sci. 2014;35:289-93.
[40] Roglans N, Vila L, Farre M, Alegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M, et al. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. Hepatology. 2007;45:778-88.
[41] Park SY, Kim YW, Kim JE, Kim JY. Age-associated changes in fat metabolism in the rat and its relation to sympathetic activity. Life Sci. 2006;79:2228-33.
[42] Karlic H, Lohninger S, Koeck T, Lohninger A. Dietary l-carnitine stimulates carnitine acyltransferases in the liver of aged rats. J Histochem Cytochem. 2002;50:205-12.
[43] Mayot G, Breuille D, Jarret AR, Obled C, Papet I. Systemic low-grade inflammation does not decrease skeletal muscle mass and protein synthesis in old rats. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2008;8:410-7.
[44] Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010;299:E685-94.
[45] Mastrocola R, Collino M, Rogazzo M, Medana C, Nigro D, Boccuzzi G, et al. Advanced glycation end products promote hepatosteatosis by interfering with SCAP-SREBP pathway in fructose-drinking mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013;305:G398-407.
[46] Zhao S, Li R, Li Y, Chen W, Zhang Y, Chen G. Roles of vitamin A status and retinoids in glucose and fatty acid metabolism. Biochem Cell Biol. 2012;90:142-52.
[47] Eliades M, Spyrou E. Vitamin D: a new player in non-alcoholic fatty liver disease? World J Gastroenterol. 2015;21:1718-27.
[48] Faure P, Barclay D, Joyeux-Faure M, Halimi S. Comparison of the effects of zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E on insulin sensitivity and oxidative stress in high-fructose-fed rats. J Trace Elem Med Biol. 2007;21:113-9.
[49] Hu QH, Zhang X, Pan Y, Li YC, Kong LD. Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation in fructose-fed rats. Biochem Pharmacol. 2012;84:113-25.
[50] Hsu CL, Wu CH, Huang SL, Yen GC. Phenolic compounds rutin and o-coumaric acid ameliorate obesity induced by high-fat diet in rats. J Agric Food Chem. 2009;57:425-31.
[51] Wu CH, Lin MC, Wang HC, Yang MY, Jou MJ, Wang CJ. Rutin inhibits oleic acid induced lipid accumulation via reducing lipogenesis and oxidative stress in hepatocarcinoma cells. J Food Sci. 2011;76:T65-72.
[52] Peng CH, Liu LK, Chuang CM, Chyau CC, Huang CN, Wang CJ. Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis. J Agric Food Chem. 2011;59:2663-71.

[53] Odbayar TO, Badamhand D, Kimura T, Takashi Y, Tsushida T, Ide T. Comparative studies of some phenolic compounds (quercetin, rutin, and ferulic acid) affecting hepatic fatty acid synthesis in mice. J Agric Food Chem. 2006;54:8261-5.
[54] Lanaspa MA, Tapia E, Soto V, Sautin Y, Sanchez-Lozada LG. Uric acid and fructose: potential biological mechanisms. Semin Nephrol. 2011;31:426-32.
[55] Hu QH, Wang C, Li JM, Zhang DM, Kong LD. Allopurinol, rutin, and quercetin attenuate hyperuricemia and renal dysfunction in rats induced by fructose intake: renal organic ion transporter involvement. Am J Physiol Renal Physiol. 2009;297:F1080-91.
[56] Iwama M, Kondo Y, Shimokado K, Maruyama N, Ishigami A. Uric acid levels in tissues and plasma of mice during aging. Biol Pharm Bull. 2012;35:1367-70.

PUBLICATION N°3

Effect of nutritional state, aging and high chronic intake of sucrose on brain protein metabolism in rats. Modulation by rutin and other micronutrients

Cette troisième publication avait pour but d'étudier les effets du régime riche en saccharose au niveau cérébral. Si de plus en plus d'études tendent à montrer un effet délétère de ce type de régime sur les performances cognitives, aucune ne s'est intéressée aux effets sur le métabolisme protéique, bien que celui ci semble altéré au cours du vieillissement et en cas de maladies neurodégénératives. De plus, ce travail sur le cerveau a été l'occasion d'une collaboration avec Stéphanie Krisa du Groupe d'Étude des Substances Végétales à Activité Biologique de Bordeaux, qui s'est intéressée plus particulièrement au stress oxydant et à l'inflammation. Il nous a également permis d'étudier l'effet du repas sur la synthèse protéique, qui, à notre connaissance, restait à déterminer, que ce soit chez l'adulte ou chez l'âgé. Ainsi, les résultats obtenus chez l'ensemble des rats (âgés et adultes, nourris et à jeun) seront présentés dans cette publication.

La concentration en protéines du cervelet était plus faible (-6%) chez les rats âgés nourris avec le régime riche en saccharose que chez les rats témoins, supplémentés ou non en micronutriments. Cette diminution de la teneur protéique induite par le régime saccharose ne semble pas due à un défaut de synthèse, puisque le taux de synthèse protéique (FSR) n'était pas modifié. En revanche, ce taux de synthèse était plus faible chez les rats âgés non supplémentés (rats témoins et rats saccharose) que chez les rats adultes, et la supplémentation en micronutriments a permis de le restaurer au niveau des adultes. De plus, il était identique à l'état post-absorptif et à l'état postprandial, quel que soit l'âge et le régime. Au niveau cérébral, la synthèse protéique n'est donc pas influencée par l'état nutritionnel.

Ainsi, le métabolisme protéique cérébral semble affecté différemment par l'âge et par le régime en saccharose et il semblait donc intéressant de se pencher sur les facteurs qui peuvent l'influencer afin de mieux identifier les causes de ces perturbations. Bien qu'au niveau systémique, hépatique et musculaire les marqueurs du stress oxydant, de l'inflammation et de la glycation des protéines aient été peu modifiés, ils pourraient tout de même être mis en cause au niveau du cerveau, organe particulièrement vulnérable aux dommages oxydatifs. En effet, notamment à cause de sa consommation importante d'oxygène, le cerveau produit une quantité importante de ROS. De plus, il possède un faible niveau de défenses anti-oxydantes (contrairement au foie par exemple), ce qui peut conduire à une élévation rapide du

stress oxydant, favorisant inflammation et glycation des protéines. Malgré cela, la concentration cérébrale en CML était similaire dans tous les groupes.

Un régime riche en saccharose réduit la concentration protéique cérébrale, sans modifier le taux de synthèse protéique. Ce dernier est en revanche altéré au cours du vieillissement et une supplémentation en micronutriments permet de prévenir cette altération. Ce travail a également été l'occasion de montrer que le taux de synthèse protéique cérébral n'est pas dépendant de l'état nutritionnel.

Effect of nutritional state, aging and high chronic intake of sucrose on brain protein metabolism in rats.

Modulation by rutin and other micronutrients

GATINEAU Eva[a,b], Stéphanie KRISA[c], Isabelle PAPET[a,b], Carole MIGNE[a,b,d], Didier REMOND[a,b], Dominique DARDEVET[a,b] , Sergio POLAKOF[a,b], Laurent MOSONI[a,b]

a: INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle, France
b: Univ Clermont 1, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000 Clermont-Ferrand, France
c : GESVAB EA 3675, ISVV, Université de Bordeaux, F-33882 Villenave d'Ornon Cedex, France
d : INRA, UMR 1019, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, UNH, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

ABSTRACT

Little is known about the regulation of brain protein synthesis. In order to increase our knowledge of the control of protein synthesis in brain, we aimed to vary brain protein synthesis rate through different physiological situations. We used variations in nutritional state, aging, high sucrose diet and micronutrient supplementation. Four groups of 16 month-old male rats were fed during five months with a diet containing either 13% or 62% sucrose (all wheat starch was replaced with sucrose), supplemented or not with rutin (5 g / kg diet), vitamin E (~4x), A (2x), D (5x), selenium (~10x) and zinc (+44%) and compared with an adult control group fed with starchy diet. We evaluated brain protein synthesis in the post absorptive and the postprandial state and the expression of antioxidant enzymes, inflammatory cytokines and carboxymethyl lysine (CML – a major advanced glycation end product). We showed that brain protein synthesis was unchanged by nutritional state. It was decreased by almost 11% during aging, and restored to the adult level by micronutrient supplementation. The high sucrose diet did not change brain protein synthesis but reduced brain protein content. The micronutrient supplementation had no effect in sucrose fed rats. CML content did not change whatever the group. In conclusion, brain protein synthesis is not modified by variations in nutritional state or by a high sucrose diet, suggesting that it is not sensitive to small variations in plasma insulin level. The variation observed in brain protein content could be due to an activation of brain proteolysis.

Key words: brain – sucrose – protein synthesis – rutin – oxidative stress – inflammation

INTRODUCTION

Brain is probably the most complex and the most important organ of the body. We are far from understanding every aspects of brain physiology. In particular, brain protein metabolism is still poorly known. Protein turnover is a key cellular process to ensure the renewal of structural and soluble proteins. The brain contains only 10% of protein, but its renewal is probably important, although we don't know how it relates to brain health and function (1). Few studies measured brain protein synthesis rate, and most of them were performed before 1995. In particular, it is still unknown whether brain protein synthesis is stimulated after eating, like it is observed in many tissues.

Thus, the aim of this publication was to improve our knowledge about the control of brain protein synthesis. We studied the effect of the meal, but we also chose physiological situations in which brain health and function were susceptible to change in order to see how it was related with brain protein synthesis rate.

The first lever that we used was aging. Indeed, it is well known that cognitive function declines with aging (2), the frequency of neurodegenerative diseases increases (3), as well as insulin resistance, inflammation, and oxidative stress (4,5). Few studies analyzed the evolution of brain protein synthesis with age, but the nutritional state was not taken into account in these studies.

The second lever that we used was a high sucrose diet. Indeed, a high sucrose or fructose intake is also described as a factor leading to cognitive dysfunction, neurodegenerative diseases, insulin resistance, inflammation, oxidative stress and

increased accumulation of advanced glycated end products, in brain as in other tissues (6–8). Previously, no studies interested in the effect of high sucrose intake on brain protein synthesis.

The third lever that we used was micronutrient supplementation. We chose a mixture of rutin, vitamin E, A, D, zinc, selenium. All these components were shown to improve cognitive function either negatively when they were deficient in the diet, either positively through supplementation (9–14). In addition, this micronutrient mixture was shown to improve muscle protein synthesis during aging (15). We hoped that this supplementation could reverse the alterations induced by aging and / or sucrose. The effect of such a supplementation on brain protein synthesis was also unknown.

To assess the impact of aging, sucrose, and micronutrient supplementation on brain health, we measured carboxymethyl lysine (CML) content.

Thus, we fed 8 month-old Wistar rats during 5 months with a control diet and 16 month-old rats with a control diet, supplemented or not with a mixture of rutin, zinc, selenium, vitamins A, E and D (=S, supplementation), or with a diet in which starch was replaced by sucrose, supplemented or not with micronutrients. We followed the evolution of body weight and food intake, and after 5 months we assessed brain protein concentration and *in vivo* brain protein synthesis in the post-absorptive and the postprandial state. We also evaluated brain protein glycation by measuring nucleus accumbens CML content.

METHODS

Animals and diet

This experiment was conducted in accordance with institutional guidelines on animal experimentation in France and was approved by the Ethics Committee in Animal Experiment CEMEA Auvergne (registration number: CE 56-12). Male 8 (n=24) and 16 month-old Wistar rats (n=120) (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were housed under controlled environmental conditions (21°C, 55% hygrometry, 12-h dark period starting at 07:00) and were allowed free access to water and food (standard pellets, UAR 04, UAR, Villemoisson sur Orge, France). After one month of acclimation, animals were randomly divided into five groups (n=24 for adult rats, A; n=30 per group for old rats, O) and were fed four different diets as dry powders: Adult control rats (ACt) and old control rats (OCt) were fed a standard diet (AIN 93,(26)); OCtS rats were fed the same diet supplemented with a mixture of micronutrients : rutin (5 g / kg dry matter in substitution with cellulose), vitamin E (all-rac-a-tocopherol acetate, 500 IU / g, 60 g / kg vitamin mixture instead of 14.2), A (all-trans-retinyl palmitate, 500,000 IU/g, 1.6 g / kg vitamin mixture instead of 0.8), D (cholecalciferol-D, 500,000 IU / kg vitamin mixture instead of 100,000), selenium (sodium selenite anhydrous, 0.14 g / kg mineral mixture instead of 0.01025) and zinc (zinc carbonate, 2.95 g / kg mineral mixture instead of 1.65) (S); Old treated rats (OTr) were fed the standard diet in which wheat starch was replaced by sucrose; OTrS rats were fed this sucrose diet supplemented with micro nutriments. Food was freely available between 08:30 and 16:00 every day. During the first two months, rats ate ad libitum, then, due to small differences in food intake, the amount of food

offered was adjusted to ~22 g/ day, which was totally consumed in all groups. Food intake was monitored every 2 to 3 days during the first two months, and then every day. Body weight was measured once a week. On the fifth month of experiment, in vivo cerebellum protein synthesis rates were measured either in the post-absorptive state (PA - after overnight food deprivation) for half of the rats or in the post-prandial state (PP - 2h after food distribution) for the other half. Rats studied during the post-prandial state had continuous access to food during 2 hours. In mean, they consumed ~16 g of food out of the 22 g offered.

Final number of rats in each group was: ACt PA: n= 10; ACt PP: n= 10; OCt PA: n=10; OCt PP: n=9; OCtS PA: n=9; OCtS PP: n=9; OTr PA: n=9; OTr PP: n=10; OTrS PA: n=9; OTrS PP: n=8.

Measurements of *in vivo* protein synthesis

Protein synthesis rates were measured using the flooding dose method. Twenty minutes before euthanasia, each rat was injected intravenously with L-valine (150 µmol/100 g body weight) containing 80% of L-[1-13C] valine (Euriso-Top, Saint Aubin, France) to flood the precursor pool. Rats were then euthanized under pentobarbital sodium anaesthesia (6mg/100 g body weight) by exsanguination through abdominal aorta. Brain was quickly removed, separated into specific regions and frozen in liquid nitrogen until further analysis. Protein synthesis rates were measured in cerebellum as described previously (16) by measuring cerebellum free and protein bound valine enrichments after protein extraction with a Polytron homogenizer in trichloroacetic acid. Cerebellum protein content was determined

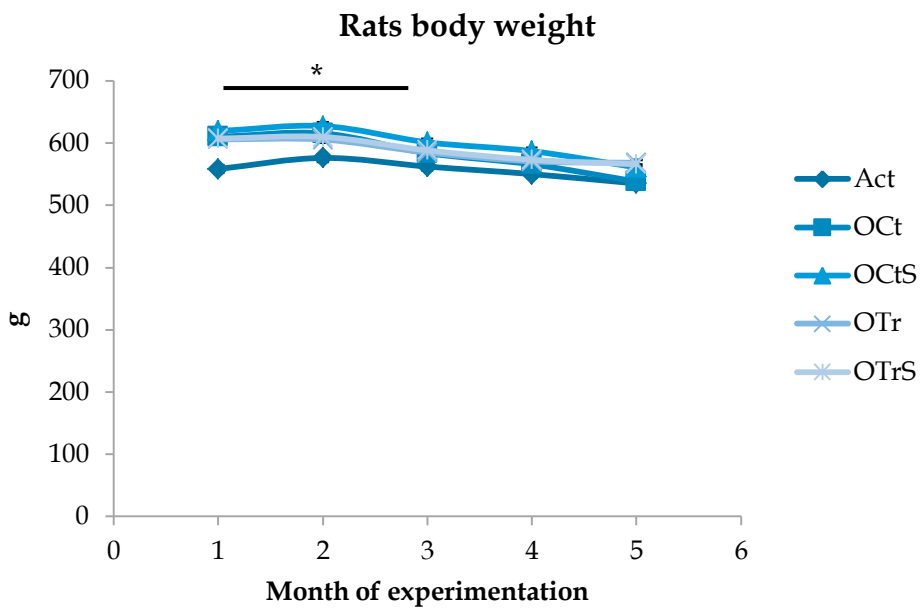
according to Smith method (17), using the BCA protein assay kit (Pierce, Rockford, Illinois, USA).

Calculations

In vivo cerebellum fractional synthesis rates (FSR, %.d) were calculated as described previously (3): FSR = 100 × (EP-EN)/(EA × t) where t is incorporation time, expressed in days, EP and EA (atom %) are ^{13}C enrichments of protein-bound valine and of cerebellum free valine respectively. EN (atom %) is an estimation of the natural 13C enrichment of protein-bound valine. It was determined in rats that were not injected with the flooding dose (2 to 3 per group).

Western Blot analysis of carboxy-methyl lysine content

Carboxy-methyl lysine content was measured in nucleus accumbens proteins of rats in post-absorptive state. Fifty mg of frozen nucleus accumbens (NAc) placed in 0.5ml of ice-cold lysis buffer (25 mM HEPES, 50 mM β-glycerophosphate, 100 mM KCl, 50 mM NaF, 2 mM EGTA, 0.2 mM EDTA, 1 mM DTT, 1 mM benzamidin, 1% Triton X-100 and 1X protease inhibitor mixture) were homogenized with an Ultra Turax homogenizer, and centrifuged at 10,000 g at 4°C for 15 min. Supernatant was used for Western blot analysis. Protein concentration was determined using the BCA protein assay kit and 30 µg of protein were submitted to SDS-Page on precast polyacrylamide gel (any Kd, Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, France). After transfer to a 0.2 µm nitrocellulose membrane (Bio-Rad laboratories), unspecific binding was blocked by incubation with 5% Bovine Serum Albumin (BSA) in Phosphate Buffer Saline - 0.1% Tween (PBS-T) for 1h at room temperature. Then, membranes were incubated overnight at 4°C with anti-carboxy-methyl lysine mouse



Supplemental figure 1: Evolution of body weight of adult and older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrients supplementation for 5 months. ACt = adult control rats; OCt = old control rats; OCtS = old control rats supplemented with micronutrients; OTr = old sucrose treated rats; OTrS = sucrose treated rats supplemented with micronutrients. Values are means ± SE. Repeated measures ANOVA analysis showed a significant effect of age and sucrose treatment on body weight evolution (A x time, P<0.001; T x time, P<0.001). * P<0.05, adult *vs* old rats, Fisher test.

antibody (1µg/ml) (R&D Systems, Abingdon, UK) in PBS-T containing 5% BSA. After removal of primary antibody, membranes were incubated for 1h at room temperature with anti-mouse IRDye® 680 secondary antibody (0.1µg/ml) (Eurobio, Courtaboeuf, France). The resulting fluorescent signal was scanned using the Odyssey infrared imaging system (Li-Cor, Lincoln, US). The actual amount of protein was estimated in each lane by fluorescence using G:Box (Syngene, Frederick, MD, USA) after UV induced reaction between trihalo compounds and tryptophan residues of proteins and was used to normalize the values.

Statistical analysis

Data were analyzed by 3-factor variance analysis (ANOVA), treatment (=T – starch or sucrose) x micronutrients supplementation (=S – with or without micronutrients supplementation) x age (A – adult or old) and by repeated-measures 3-factor ANOVA, T x S x A x time for body weight. Fisher test was used for post hoc comparisons of means. We used SAS software. Data are expressed as means ± SE. The level of significance was set at $P < 0.05$. a, b, c…: labeled means with a common letter differ.

RESULTS

Food intake, body weight

Although small differences in food intake were observed between groups during the first weeks, as soon as the amount of food offered was adjusted to 22 g per day, there was no more any difference. Thus, over the last three months, observed mean food intake was 21 ± 0.1 g. At the beginning of the experiment, adult rats were lighter than old rats (**Supplemental figure 1**) and weight was similar in all old groups. Weight

Table 1 **Cerebellum protein metabolism of older male rats fed a diet containing 13% or 62% sucrose, with and without micronutrients for 5 month.**

	ACt	OCt	OCtS	OTr	OTrS	ANOVA[1]
Protein concentration (mg/g)						
PA	9.58 ± 0.33[ab]	8.73 ± 0.35[abcd]	8.61 ± 0.32[bcd]	8.46 ± 0.51[cd]	8.85 ± 0.21[abcd]	T, P = 0.048
PP	9.23 ± 0.54[abcd]	9.46 ± 0.26[abc]	9.68 ± 0.36[a]	8.65 ± 0.32[bcd]	8.44 ± 0.28[d]	
FSR (% prot synt/d)						
PA	12.75 ± 0.32[abc]	12.31 ± 0.60[abc]	13.20 ± 0.31[ab]	12.04 ± 0.47[bc]	13.52 ± 0.39[a]	A, P = 0.017;
PP	13.26 ± 0.37[ab]	11.50 ± 0.73[c]	13.44 ± 0.37[a]	12.95 ± 0.48[ab]	12.88 ± 0.55[ab]	S, P = 0.002

Values are means ± SE. [1]ANOVA significant effects. a, b, c, d = Labeled means in a row without a common letter differ, P<0.05 ; ACt = adult control rats; OCt = old control rats; OCtS = old control rats supplemented with micronutrients; OTr ,old sucrose treated rats; OTrS, sucrose treated rats supplemented with micronutrients. A = Age, S = supplementation with micronutrients, T = treatment with sucrose.

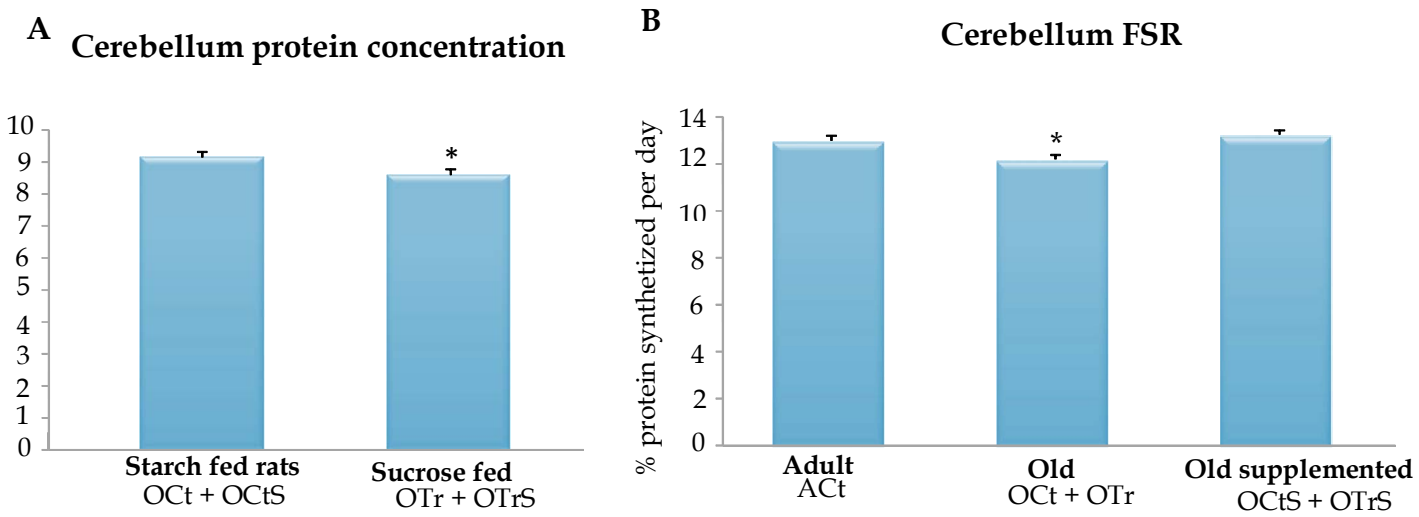


Figure 1: (A) Cerebellum protein concentration of older male rats fed a diet containing 13% or 62% sucrose, with and without micronutrients for 5 month.
OCt + OCtS = old starch fed rats (13% sucrose), supplemented and non-supplemented rats were pooled[†]; OTr + OTrS = old sucrose treated rats (62% sucrose), supplemented and non-supplemented rats were pooled[†]. Values are means ± SE. * P<0.05, Fisher test

(B) Cerebellum fractional synthesis rates of adult and older male rats supplemented or not with micronutrients for 5 months. ACt = adult control rats; OCt + OTr = old rats non-supplemented with micronutrients, starch fed rats and sucrose treated rats were pooled[†]; OCtS + OTrS = old rats supplemented with micronutrients, starch fed rats (13% sucrose) and sucrose treated rats (62% sucrose) were pooled[†]. Values are means ± SE. * P<0.05, Fisher test. [†]See **Table 1** for detailed results.

significantly increased in ACt during the first 2 mo and was stable in all old rats and then, decreased significantly ($P < 0.01$) until the end of the experiment, where there was no longer a significant effect of age on body weight. However, the rate of decrease was lower in sucrose-fed rats than in starch-fed rats ($P<0.01$), resulting in higher body in sucrose feds rats than starch feds rats at the end of the experiment ($P<0.01$). Final body weights were: ACt: 533 ± 8g[b] OCt: 530 ± 11g[b]; OCtS: 560 ± 6g[a]; OTr: 569 ± 10g[a]; OTrS: 571 ± 14g[a].

Protein metabolism

Cerebellum protein concentration was decreased by ~6% by sucrose rich diet ($P=0.048$) (Figure 1), but was not affected neither by nutritional state, age nor micronutrients supplementation (Table 1). Fractional synthesis rates (% protein synthetized per day - FSR) remained stable whatever the nutritional state (Table 1). FSR was significantly lower in old rats than in adult rats (- 6%) and was restored to the adult level by micronutrient supplementation, in starch fed and sucrose fed rats (Table 1, Figure 1).

Protein Glycation

Carboxy-methyl lysine content of NAc was not different between groups (Figure 2).

DISCUSSION

The aim of this study was to examine the combined effect of aging and sucrose rich diet on rat brain protein metabolism and potential benefices of a micronutrients supplementation. This work also provided an opportunity to determine whether brain protein synthesis is influenced by nutritional state. Indeed, the effect of feeding on protein synthesis is well characterized in many tissues, especially in skeletal

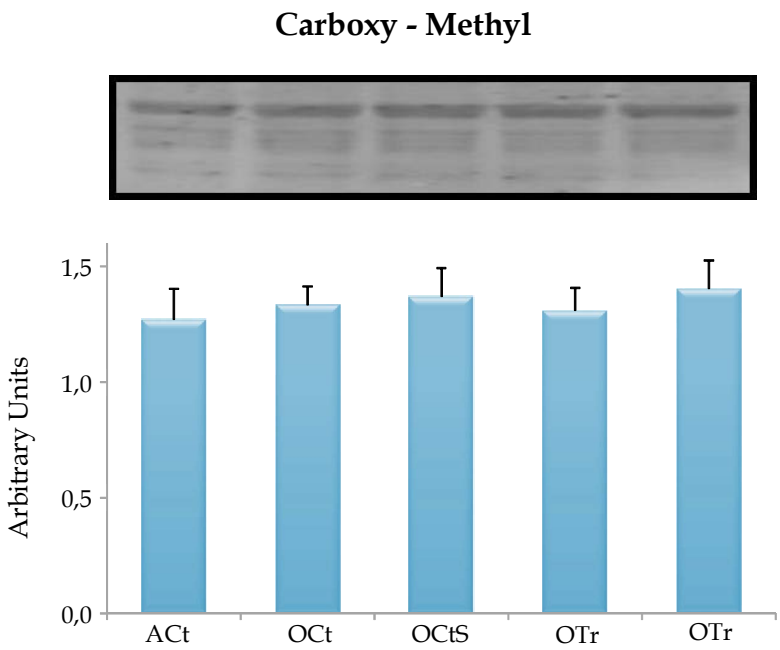


Figure 2: Nucleus accumbens carboxy-methyl lysine content of nucleus accumbens of adult and older male rats fed diets containing 13% or 62% sucrose with or without micronutrients supplementation for 5 months. A representative blot is shown, and mean values ± SEs obtained in each groups are given in histograms. Three-factors ANOVA, Treatment x Supplementation x Age were conducted and showed no significant effects. ACt = adult control rats; OCt = old control rats; OCtS = old control rats supplemented with micronutrients; OTr = old sucrose treated rats; OTrS = sucrose treated rats supplemented with micronutrients.

muscle, but not in brain. In muscle, protein synthesis is stimulated after feeding and this stimulation is altered with aging partly because of oxidative stress and inflammation (18). Since brain is particularly sensitive to oxidative stress and inflammation, it would be possible that brain protein synthesis, chiefly postprandial protein synthesis, could also be affected. To the best of our knowledge, no previous studies measured meal-induced variations in brain protein synthesis, so we demonstrated for the first time that there is no stimulation of brain protein synthesis after feeding, either in adult or old rats. Moreover this lack of stimulation was observed whatever the diet. It was previously shown in young rats (that are much more sensitive to meal intake than adult or old rats), that brain fractional synthesis rate was unchanged after overnight food deprivation (19). It was only after one day of starvation that a significant decreased in brain fractional synthesis rate was observed (20,21). Thus it is clear that brain protein synthesis rate is not modified by the daily variations of nutritional state.

Our results also showed that brain fractional synthesis rate is reduced during aging. Many of the previous reports on the evolution of brain protein synthesis during aging included young growing rats. As in many other tissues, it is clear that brain protein synthesis is markedly reduced from young age to middle age. Thus, some of the previous report concluded that there was a decrease of brain protein synthesis during aging, whereas they compared young age and middle age. In addition, in these reports, there was not always a clear difference between middle age and old age (22–24). However, other papers also found a significant decrease in *in vivo* brain protein synthesis rate between middle age and old age (25–27), although the technics

used were not optimal to take into account the recycling of the tracer. Thus, we could confirm using optimal in vivo technics that brain protein synthesis decreased between adult and old age. Other technics are being developed in the brain using positron emission tomography (28), but to our knowledge, this method was not used to measure the evolution of brain protein synthesis with age.

We showed that this age-related fall in brain protein synthesis could be reversed by a micronutrient supplementation. Such a result was not described previously. However, positive effects of micronutrients on brain have already been described. In particular, the capacity of polyphenols to prevent neurodegenerative diseases has been extensively studied (29,30). Rutin was shown to improve spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by decreasing β-amyloid oligomer, to reduce pro-inflammatory cytokines level, and to increase superoxide dismutase activity and reduced / oxidized glutathione ratio (9). Similarly high vitamin E serum levels are associated with lower risk of cognitive deficiency (10) and vitamin E supplementation allowed to decrease β-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice (31,32). Selenium is also important for the maintenance of cognitive function during aging (11,33). Zinc is essential to cerebral function during aging (12), and inadequate amounts of zinc leads to pathology like Alzheimer's disease (34). Vitamin A deficiency leads to neurodegenerative diseases (13) whereas vitamin A supplementation lowers the accumulation of β-amyloid oligomer, improving cognitive abilities in mice (35). Similar results are now described regarding vitamin D (14,36–38). Of course, it is not really known how positive effects on cognitive function relate with brain protein synthesis rates. Our results contribute to the idea that higher

protein synthesis rate is better since it was reduced during aging, and restored by micronutrient supplementation.

However, although it is recognized that high sucrose diets have deleterious effects in brain (8,39), in the present work, the high sucrose diet did not change brain protein synthesis rate. To our knowledge, no other studies analyzed the effect of high sucrose or fructose diet on brain protein synthesis rate. It is surprising to find no effect because modifications could have been obtained through alterations in insulin sensitivity (40,41). In our model, significant alteration in insulin sensitivity at the systemic level was demonstrated (42). Since brain protein synthesis did not vary in response to meal intake, even in adult rats, as shown in this work, it is possible that brain protein synthesis is not sensitive to small variations in plasma insulin level (insulin levels in the brain are in fact much higher than in the blood) (43). However, drastic variations in insulin concentrations in diabetic rats (44) or after brain ischemia (45) were shown to regulate brain protein synthesis. In addition, it was shown that high sucrose intake in an animal model of Alzheimer's disease increased the occurrence of the disease, induced insulin resistance and upregulated brain mTOR signaling (46). It is not known whether brain protein synthesis was altered in this model. In the present study, it is possible that the variations induced by the high sucrose diet on insulin sensitivity were not high enough to affect brain protein synthesis rate.

Similarly, high sucrose diets were shown to induce inflammation (47,48), and oxidative stress or protein glycation (49) in brain. In many tissues, inflammation is able to alter protein synthesis rates. It is not known whether the same is true in brain.

In our model, inflammation and oxidative stress were low in control rats as well as in sucrose fed rats (42), and thus it is possible that, as for insulin sensitivity, variations were not high enough to modulate brain protein synthesis. It was also shown that 3 weeks of ethanol consumption in young rats (30% of total calories) reduced fractional synthesis rates in muscle but not in brain, although brain protein content was reduced (1). It is thus surprising to see that ethanol and high sucrose diet did not reduce brain protein synthesis, whereas healthy aging did. For many aspects, a high sucrose diet constitutes a model of accelerated aging (insulin resistance, oxidative stress, inflammation). We even showed that a high sucrose diet accelerates sarcopenia (42). What is different in healthy aging and in sucrose induced aging so that brain protein synthesis is not affected in the same way? Further studies are necessary to answer this question.

Another surprising result of this work was that brain protein concentration was unaltered during healthy aging, whereas brain protein synthesis was reduced, while brain protein concentration was reduced in response to a high sucrose diet, whereas in this situation, brain protein synthesis was unchanged. However, brain protein content is necessarily the result of the balance between protein synthesis and protein degradation. Thus, during aging, no change in protein content with a decrease in protein synthesis suggests a concomitant decrease in protein degradation, and during a high sucrose diet, a decrease in protein content with no change in protein synthesis suggests an increase in protein degradation. An increase in brain advanced glycation end products or CML content has been described during simple aging (50–52), as well as after high fructose diet (49). Thus, in both cases, the need to remove

glycated, aggregated or oxidized protein could trigger an increase in protein degradation. The regulation of proteasome activity during aging in the brain is complex, and a decrease with aging is possible, as well as a stimulation after a mild oxidative stress, but also an inhibition after higher oxidative stress (53,54). Based on the lack of change of CML content in brain that we obtained, we can assume that brain oxidative stress / glycation was low in our experiment. In particular, we could not show that CML content was higher in sucrose fed rats, which would have been consistent with higher proteolysis rate and lower protein content.

In conclusion, we showed that the only effect of a high fructose diet in old rats was a reduction in brain protein content. We also showed that brain protein synthesis rate does not vary in response to meal intake neither in adult nor in old rats, suggesting an absence of response of brain protein synthesis to small physiological variations in plasma insulin concentration. Brain protein synthesis rate decreased during aging, and five months of micronutrient supplementation restored brain protein synthesis rate to the level observed in adult rats. Further studies will be necessary before we fully understand how protein synthesis is regulated in the brain, and how it relates with brain health and cognitive function.

REFERENCES

1. Bonner AB, Marway JS, Swann M, Preedy VR. Brain nucleic acid composition and fractional rates of protein synthesis in response to chronic ethanol feeding: Comparison with skeletal muscle. Alcohol. 1996;13:581–7.
2. Harada CN, Natelson Love MC, Triebel K. Normal Cognitive Aging. Clin Geriatr Med. 2013;29:737–52.
3. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a Risk Factor for Disease. Curr Biol. 2012;22:R741–R752.
4. Fink RI, Kolterman OG, Griffin J, Olefsky JM. Mechanisms of Insulin Resistance in Aging. J Clin Invest. 1983;71:1523–35.
5. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. Molecular Inflammation: Underpinnings of Aging and Age-related Diseases. Ageing Res Rev. 2009;8:18–30.
6. Bray GA, Popkin BM. Dietary Sugar and Body Weight: Have We Reached a Crisis in the Epidemic of Obesity and Diabetes? Health Be Damned! Pour on the Sugar. Diabetes Care. 2014;37:950–6.
7. Ye X, Gao X, Scott T, Tucker KL. Habitual sugar intake and cognitive function among middle-aged and older Puerto Ricans without diabetes. Br J Nutr. 2011;106:1423–32.
8. Stephan BCM, Wells JCK, Brayne C, Albanese E, Siervo M. Increased Fructose Intake as a Risk Factor For Dementia. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2010;65A:809–14.
9. Xu P-X, Wang S-W, Yu X-L, Su Y-J, Wang T, Zhou W-W, Zhang H, Wang Y-J, Liu R-T. Rutin improves spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by reducing Aβ oligomer level and attenuating oxidative stress and neuroinflammation. Behav Brain Res. 2014;264:173–80.
10. Mangialasche F, Solomon A, Kåreholt I, Hooshmand B, Cecchetti R, Fratiglioni L, Soininen H, Laatikainen T, Mecocci P, Kivipelto M. Serum levels of vitamin E forms and risk of cognitive impairment in a Finnish cohort of older adults. Exp Gerontol. 2013;48:1428–35.
11. Berr C, Arnaud J, Akbaraly TN. Selenium and cognitive impairment: A brief-review based on results from the EVA study. BioFactors. 2012;38:139–44.
12. Markiewicz-Żukowska R, Gutowska A, Borawska MH. Serum zinc concentrations correlate with mental and physical status of nursing home residents. PloS One. 2015;10:e0117257.
13. Sodhi RK, Singh N. Retinoids as potential targets for Alzheimer's disease. Pharmacol Biochem Behav. 2014;120:117–23.
14. Latimer CS, Brewer LD, Searcy JL, Chen K-C, Popović J, Kraner SD, Thibault O, Blalock EM, Landfield PW, Porter NM. Vitamin D prevents cognitive decline and enhances hippocampal synaptic function in aging rats. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111:E4359–E4366.
15. Marzani B, Balage M, Vénien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D, Mosoni L. Antioxidant Supplementation Restores Defective Leucine Stimulation of Protein Synthesis in Skeletal Muscle from Old Rats. J Nutr. 2008;138:2205–11.

16. Mosoni L, Valluy MC, Serrurier B, Prugnaud J, Obled C, Guezennec CY, Mirand PP. Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. Am J Physiol. 1995;268:E328–335.
17. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem. 1985;150:76–85.
18. Balage M, Averous J, Rémond D, Bos C, Pujos-Guillot E, Papet I, Mosoni L, Combaret L, Dardevet D. Presence of low-grade inflammation impaired postprandial stimulation of muscle protein synthesis in old rats. J Nutr Biochem. 2010;21:325–31.
19. Preedy VR, Smith DM, Sugden PH. The effects of 6 hours of hypoxia on protein synthesis in rat tissues in vivo and in vitro. Biochem J. 1985;228:179–85.
20. Preedy VR, Paska L, Sugden PH, Schofield PS, Sugden MC. The effects of surgical stress and short-term fasting on protein synthesis in vivo in diverse tissues of the mature rat. Biochem J. 1988;250:179–88.
21. Cherel Y, Attaix D, Rosolowska-Huszcz D, Arnal M, Le Maho Y. Brief fasting decreases protein synthesis in the brain of adult rats. Neurochem Res. 1991;16:843–7.
22. Goldspink DF. Protein Turnover and Growth of the Rat Brain from the Foetus to Old Age. J Neurochem. 1988;50:1364–8.
23. Fando JL, Salinas M, Wasterlain CG. Age-dependent changes in brain protein synthesis in the rat. Neurochem Res. 1980;5:373–83.
24. Beebe Smith C, Sun Y, Sokoloff L. Effects of aging on regional rates of cerebral protein synthesis in the Sprague-Dawley rat: examination of the influence of recycling of amino acids derived from protein degradation into the precursor pool. Neurochem Int. 1995;27:407–16.
25. Bustany P, Trenque T, Crambes O, Moulin M. Restoration of brain protein synthesis in mature and aged rats by a DA agonist, piribedil. Fundam Clin Pharmacol. 1995;9:458–68.
26. Dwyer BE, Fando JL, Wasterlain CG. Rat Brain Protein Synthesis Declines During Postdevelopmental Aging. J Neurochem. 1980;35:746–9.
27. Ingvar MC, Maeder P, Sokoloff L, Smith CB. Effects of Ageing on Local Rates of Cerebral Protein Synthesis in Sprague-Dawley Rats. Brain. 1985;108:155–70.
28. Sundaram SK, Muzik O, Chugani DC, Mu F, Mangner TJ, Chugani HT. Quantification of Protein Synthesis in the Human Brain Using l-[1-11C]-Leucine PET: Incorporation of Factors for Large Neutral Amino Acids in Plasma and for Amino Acids Recycled from Tissue. J Nucl Med. 2006;47:1787–95.
29. Bhullar KS, Rupasinghe HPV. Polyphenols: Multipotent Therapeutic Agents in Neurodegenerative Diseases. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2013 [cited 2014 Sep 8];2013. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3690243/
30. Basli A, Soulet S, Chaher N, Mérillon J-M, Chibane M, Monti J-P, Richard T. Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection. Oxid Med Cell Longev. 2012;2012:805762.

31. Conte V, Uryu K, Fujimoto S, Yao Y, Rokach J, Longhi L, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, McIntosh TK, Praticò D. Vitamin E reduces amyloidosis and improves cognitive function in Tg2576 mice following repetitive concussive brain injury. J Neurochem. 2004;90:758–64.
32. Nishida Y, Ito S, Ohtsuki S, Yamamoto N, Takahashi T, Iwata N, Jishage K, Yamada H, Sasaguri H, et al. Depletion of Vitamin E Increases Amyloid β Accumulation by Decreasing Its Clearances from Brain and Blood in a Mouse Model of Alzheimer Disease. J Biol Chem. 2009;284:33400–8.
33. Akbaraly TN, Akbaraly NT, Hininger-Favier I, Carrière I, Arnaud J, Gourlet V, Roussel A-M, Berr C. Plasma selenium over time and cognitive decline in the elderly. Epidemiol Camb Mass. 2007;18:52–8.
34. Tyszka-Czochara M, Grzywacz A, Gdula-Argasińska J, Librowski T, Wiliński B, Opoka W. The role of zinc in the pathogenesis and treatment of central nervous system (CNS) diseases. Implications of zinc homeostasis for proper CNS function. Acta Pol Pharm. 2014;71:369–77.
35. Ding Y, Qiao A, Wang Z, Goodwin JS, Lee E-S, Block ML, Allsbrook M, McDonald MP, Fan G-H. Retinoic Acid Attenuates β-Amyloid Deposition and Rescues Memory Deficits in an Alzheimer's Disease Transgenic Mouse Model. J Neurosci. 2008;28:11622–34.
36. Llewellyn DJ, Lang IA, Langa KM, Muniz-Terrera G, Phillips CL, Cherubini A, Ferrucci L, Melzer D. Vitamin D and Risk of Cognitive Decline in Elderly Persons. Arch Intern Med. 2010;170:1135–41.
37. Toffanello ED, Coin A, Perissinotto E, Zambon S, Sarti S, Veronese N, De Rui M, Bolzetta F, Corti M-C, et al. Vitamin D deficiency predicts cognitive decline in older men and women: The Pro.V.A. Study. Neurology. 2014;83:2292–8.
38. Briones TL, Darwish H. Vitamin D mitigates age-related cognitive decline through the modulation of pro-inflammatory state and decrease in amyloid burden. J Neuroinflammation. 2012;9:244.
39. Carvalho C, Cardoso S, Correia SC, Santos RX, Santos MS, Baldeiras I, Oliveira CR, Moreira PI. Metabolic Alterations Induced by Sucrose Intake and Alzheimer's Disease Promote Similar Brain Mitochondrial Abnormalities. Diabetes. 2012;61:1234–42.
40. Mielke JG, Taghibiglou C, Liu L, Zhang Y, Jia Z, Adeli K, Wang YT. A biochemical and functional characterization of diet-induced brain insulin resistance. J Neurochem. 2005;93:1568–78.
41. Agrawal R, Gomez-Pinilla F. "Metabolic syndrome" in the brain: deficiency in omega-3 fatty acid exacerbates dysfunctions in insulin receptor signalling and cognition. J Physiol. 2012;590:2485–99.
42. Gatineau E, Savary-Auzeloux I, Migné C, Polakof S, Dardevet D, Mosoni L. Chronic Intake of Sucrose Accelerates Sarcopenia in Older Male Rats through Alterations in Insulin Sensitivity and Muscle Protein Synthesis. J Nutr. 2015;jn205583.
43. Akintola AA, van Heemst D. Insulin, Aging, and the Brain: Mechanisms and Implications. Front Endocrinol [Internet]. 2015 [cited 2015 Aug 12];6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4319489/

44. Hayase K, Yokogoshi H. Insulin Treatment Affects Brain Protein Synthesis Rate in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Nutr. 1995;125:2768–72.
45. Sullivan JM, Alousi SS, Hikade KR, Bahu NJ, Rafols JA, Krause GS, White BC. Insulin Induces Dephosphorylation of Eukaryotic Initiation Factor 2α and Restores Protein Synthesis in Vulnerable Hippocampal Neurons After Transient Brain Ischemia. J Cereb Blood Flow Metab. 1999;19:1010–9.
46. Orr ME, Salinas A, Buffenstein R, Oddo S. mTOR hyperactivity mediates the detrimental effects of a high sucrose diet on Alzheimer's disease pathology. Neurobiol Aging. 2014;35:1233–42.
47. Hsu TM, Konanur VR, Taing L, Usui R, Kayser BD, Goran MI, Kanoski SE. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. Hippocampus. 2015;25:227–39.
48. Beilharz JE, Maniam J, Morris MJ. Short exposure to a diet rich in both fat and sugar or sugar alone impairs place, but not object recognition memory in rats. Brain Behav Immun. 2014;37:134–41.
49. Liu X, Luo D, Zheng M, Hao Y, Hou L, Zhang S. Effect of pioglitazone on insulin resistance in fructose-drinking rats correlates with AGEs/RAGE inhibition and block of NAPDH oxidase and NF kappa B activation. Eur J Pharmacol. 2010;629:153–8.
50. Kimur T, Takamatsu J, Ikeda K, Kondo A, Miyakawa T, Horiuchi S. Accumulation of advanced glycation end products of the Maillard reaction with age in human hippocampal neurons. Neurosci Lett. 1996;208:53–6.
51. Thangthaeng N, Sumien N, Forster MJ. Dissociation of functional status from accrual of CML and RAGE in the aged mouse brain. Exp Gerontol. 2008;43:1077–85.
52. Dei R, Takeda A, Niwa H, Li M, Nakagomi Y, Watanabe M, Inagaki T, Washimi Y, Yasuda Y, et al. Lipid peroxidation and advanced glycation end products in the brain in normal aging and in Alzheimer's disease. Acta Neuropathol (Berl). 2002;104:113–22.
53. Keller JN, Gee J, Ding Q. The proteasome in brain aging. Ageing Res Rev. 2002;1:279–93.
54. Höhn A, König J, Grune T. Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. J Proteomics. 2013;92:132–59.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif principal de cette thèse était d'étudier l'impact d'un régime riche en sucres ajoutés au cours du vieillissement sur différents tissus chez le rat, avec comme cible principale la sarcopénie. Nous avons ainsi montré pour la première fois qu'un régime riche en saccharose accélérait la perte de masse maigre au cours du vieillissement. Nous avons également pu confirmer que le foie est particulièrement touché par l'apport excessif de sucre, et que le cerveau n'est pas épargné. Ce travail devait également permettre d'évaluer l'efficacité d'une supplémentation en micronutriments dans le but de limiter les éventuelles altérations métaboliques induites. Nous avons pu constater que cette supplémentation avait a priori peu d'effet sur la masse maigre mais qu'elle était capable d'agir sur la masse grasse.

L'un des intérêts majeurs de cette étude vient du fait qu'elle a été menée chez le rat âgé. Ainsi, nous avons pu montrer que les principales altérations induites par un régime riche en fructose chez l'adulte sont également observées chez le rat âgé. En effet, le fructose a engendré une augmentation des triglycérides plasmatiques, une des premières conséquences observée chez l'adulte. La concentration en triglycérides, et en lipides totaux a également augmenté au niveau hépatique confirmant le fait que la consommation de fructose représente un facteur de risque de la stéatose hépatique non alcoolique. Une diminution de sensibilité à l'insuline, autre conséquence majeure d'un régime riche en fructose chez l'adulte est également apparue chez les rats âgés.

Si les métabolismes lipidique et hépatique sont couramment étudiés dans le cas d'un régime riche en sucres simples, ce n'est pas le cas du métabolisme protéique. Pourtant, nous avons pu montrer qu'il était lui aussi touché par ce type de régime et que les conséquences engendrées différaient selon le tissu. En effet, au niveau musculaire, le régime saccharose a entraîné une moindre stimulation de la synthèse protéique par le repas, comparativement au régime témoin, ce qui a abouti à une perte de masse musculaire plus importante chez les rats nourris avec le régime saccharose. Ainsi, le fructose a globalement accéléré les effets du vieillissement. En revanche, au niveau cérébral, il n'a pas amplifié la diminution de synthèse protéique due au vieillissement, mais a induit une diminution de concentration protéique qui n'est pas observée chez les rats âgés témoins. Enfin, au niveau hépatique, le fructose a induit une augmentation de la synthèse protéique post absorptive.

Plusieurs facteurs pourraient expliquer l'altération du métabolisme protéique musculaire postprandial induite par le régime saccharose mais les résultats obtenus ici tendent à mettre en cause la diminution de sensibilité à l'insuline. En effet, selon certains auteurs, une altération de la sensibilité à l'insuline entraîne une moindre stimulation de la synthèse protéique musculaire en réponse aux acides aminés. La diminution de sensibilité à l'insuline due au fructose pourrait donc être responsable

de l'accélération de la perte de masse musculaire liée à l'âge. L'hypothèse d'une implication de la sensibilité à l'insuline est appuyée par la faible augmentation de l'inflammation et du stress oxydant.

Les modifications du métabolisme protéique observées dans le foie en réponse au régime riche en sucre pourraient également être le résultat, peut-être plus indirectement, d'une modification de la sensibilité à l'insuline. En effet, l'insuline ne régule pas la synthèse protéique tissulaire dans le foie *(Boirie et al., 2001)*. Même après induction d'un diabète chez le rat, la synthèse protéique hépatique reste inchangée *(Pain and Garlick, 1974)*. En revanche, nous avons constaté une augmentation du poids du foie et de la masse lipidique, suggérant une augmentation de l'activité métabolique dans cet organe qui pourrait être responsable de l'augmentation de la synthèse protéique. Le même phénomène a été constaté chez des rats obèses Zucker *(She et al., 2013)*. Ces dépôts ectopiques lipidiques sont reconnus pour favoriser l'apparition de l'insulino-résistance et pourraient donc, indirectement, être en partie responsables de l'altération du métabolisme protéique musculaire. Par ailleurs, l'hyper-insulinémie peut, elle-même, favoriser l'accumulation des lipides au niveau du foie, en induisant leur synthèse (*via* SREBP-1c) et en augmentant leur captage par le foie. Il se crée donc un cercle vicieux au sein duquel la diminution de sensibilité à l'insuline pourrait participer aux modifications de la synthèse protéique dans le foie.

De même, au niveau cérébral, l'absence d'effet du régime riche en sucre sur la synthèse protéique est compatible avec une baisse de la sensibilité à l'insuline et une hyperinsulinémie systémique. En effet, bien que la synthèse protéique cérébrale soit sensible à des variations marquées de l'insulinémie plasmatique, nous avons montré que la synthèse protéique ne variait pas en fonction du repas, quel que soit l'âge et le régime des rats. Il parait donc cohérent que la variation d'insulinémie et de sensibilité à l'insuline induites par le régime riche en sucre n'aient pas eu d'influence sur la synthèse protéique cérébrale, même si d'autres aspects du métabolisme cérébral ont pu être affectés.

Ainsi, l'ensemble des modifications du métabolisme protéique que nous avons observées à la suite du régime riche en saccharose sont compatible avec un rôle central de la modification de la sensibilité à l'insuline.

Pourtant, au vu de données obtenues précédemment au sein du laboratoire, le stress oxydant et l'inflammation sont considérés comme des facteurs importants dans l'apparition de la sarcopénie. Or, ces travaux ont montré que l'accélération de la perte de masse musculaire par le fructose était indépendante d'une augmentation du stress oxydant et de l'inflammation. S'il a été surprenant de constater que,

contrairement à ce qui est décrit dans la littérature, le fructose a eu peu d'influence sur l'équilibre redox et le statut inflammatoire et n'a pas engendré d'augmentation de la glycation des protéines (du moins au niveau hépatique et cérébral), l'âge n'a pas non plus influencé ces paramètres. Il semble donc que la cohorte de rats utilisée se soit montrée particulièrement résistante à la fois aux effets du vieillissement et du régime sur ces paramètres et que l'utilisation de rats plus âgés aurait peut-être permis d'observer des effets plus marqués.

Malgré cela, la supplémentation en micronutriments a démontré certains effets bénéfiques. Il semblerait donc que ces effets ne soient pas dus à leur potentiel antioxydant, mais plutôt à leur capacité à réguler certains facteurs de transcription. L'effet le plus marqué de la supplémentation a eu lieu sur les lipides puisqu'elle a permis de prévenir l'augmentation de masse grasse induite par le fructose, ainsi que celle des lipides hépatiques et notamment des triglycérides. Cet effet semble en partie médié par une action sur la synthèse lipidique. Les enzymes de la lipogenèse étant sous le contrôle de plusieurs facteurs de transcription, tels SREPB-1c, ChREBP et les PPARγ, on peut supposer que les micronutriments présents dans la supplémentation ont été capables de moduler ces facteurs. Cette hypothèse est renforcée par certains résultats de la littérature, notamment concernant la rutine et la quercétine. Elles seraient en effet capables d'inhiber les PPARγ et SREPB-1c *(Kobori et al., 2011; Wu et al., 2011)*. Selon plusieurs études, la rutine serait également capable d'activer les PPARα *(Jeon et al., 2014; Liu et al., 2014)*, plutôt responsables de l'activation de gènes impliqués dans la β-oxydation. Bien que nous n'ayons pas observé d'effets de la supplémentation sur l'ACOX et la CPT en termes d'activité enzymatique, il se peut que l'expression de ces enzymes ait été augmentée. L'acide rétinoïque est lui aussi un important modulateur de l'expression génique *via* les PPARs et les RXR et pourrait participer à l'effet préventif de la supplémentation.

Si, durant ces travaux, l'inflammation a peu augmenté, au vu de la littérature, on peut imaginer qu'une étude menée chez des rats plus âgés aurait occasionné des effets plus prononcés et la supplémentation aurait pu en être d'autant plus efficace. En effet, les résultats complémentaires obtenus *in vitro* ont confirmé que les micronutriments utilisés dans la supplémentation, à l'exception de la vitamine D, possédaient un effet anti-inflammatoire, renforcé par le fait qu'ils soient apportés en combinaison. L'absence d'effet sur certains paramètres pourrait donc être due à la faible augmentation de l'inflammation plutôt qu'au manque d'efficacité de la supplémentation. Cependant, nous ne pouvons pas non plus exclure le fait que, suite à leur absorption et leur métabolisme, les micronutriments se soient retrouvés à une concentration circulante insuffisante pour exercer leur bio-activité, en particulier du

fait de l'âge des rats, sachant que l'absorption de certains nutriments diminue avec l'âge *(Drozdowski and Thomson, 2006)*.

Une consommation excessive de saccharose entraîne donc de profondes modifications qui touchent aussi bien le métabolisme protéique, glucidique que lipidique et se manifestent dans plusieurs tissus, mais ces manifestations sont finalement similaires à celles observées au cours du vieillissement normal et l'excès de sucre pourrait simplement rendre leur apparition plus précoce et donc, sur le long terme, réduire l'espérance de vie. Une étude de Murtagh-Mark a ainsi montré que la consommation *ad libitum* d'un régime où les glucides étaient apportés sous forme de saccharose entraînait une diminution de la durée de vie moyenne et de la durée de vie maximale, comparativement à un régime dont la source de glucides est l'amidon *(Murtagh-Mark et al., 1995)*. En revanche, la source de glucides n'a pas modifié les causes de la mort, renforçant l'hypothèse selon laquelle le fructose ne ferait qu'accélérer des altérations inhérentes au vieillissement.

En conclusion, les résultats obtenus au cours de cette thèse ont permis de montrer que l'anabolisme protéique musculaire postprandial de rats âgés était altéré par un régime riche en fructose, accélérant ainsi la perte de masse musculaire liée à l'âge. Si cette perte est vraisemblablement due à une dérégulation du métabolisme glucidique, avec une diminution de la sensibilité à l'insuline, le métabolisme lipidique hépatique a lui aussi été profondément affecté par le régime riche en fructose. Ces résultats suggèrent donc que la consommation accrue de sucres ajoutés observée depuis plusieurs dizaines d'années pourrait représenter un facteur de risque d'apparition de la sarcopénie et qu'une supplémentation en micronutriments ne serait pas suffisante pour limiter ce risque.

Afin de mieux comprendre les causes de l'altération de l'anabolisme protéique musculaire postprandial induite par le régime saccharose et vérifier l'implication supposée de l'insuline dans cette perturbation, il serait intéressant d'étudier la voie de signalisation dépendante de l'insuline au niveau musculaire. Pour cela un dosage de la protéine Akt pourrait notamment être réalisé, ainsi qu'une étude de la phosphorylation des substrats du récepteur à l'insuline.

Si la responsabilité de l'insuline est effectivement démontrée, cela permettrait d'envisager d'autres stratégies nutritionnelles, en ciblant celles reconnues pour améliorer la sensibilité à l'insuline et qui pourraient donc s'avérer plus adaptées à la prévention de la sarcopénie induite par le sucre. Une supplémentation en acides gras

oméga 3 pourrait par exemple être testée, d'autant plus qu'elle s'est déjà révélée efficace pour stimuler la synthèse protéique musculaire chez des personnes âgées *(Smith et al., 2011)*.

En outre, la supplémentation en micronutriments choisie dans cette étude a tout de même eu un effet sur la masse grasse et sur les triglycérides plasmatiques et hépatiques, et il serait donc intéressant de déterminer le mode d'action de cette supplémentation sur le métabolisme lipidique. Une des premières pistes à exploiter serait de vérifier si, comme la littérature le laisse penser, certains des micronutriments testés sont capables de moduler l'activité de facteurs de transcription tels que SREBP-1c, ChREBP, PPARγ, PPARα,…

ANNEXES

ANNEXE 1 : COMPOSITION DES REGIMES

Tableau 1 : Aliment complet

	Témoins		Saccharose	
	Sans supplémentation	Avec supplémentation	Sans supplémentation	Avec supplémentation
	Ingrédients en g/kg d'aliment			
Caséine	140	140	140	140
L-cystéine	1,8	1,8	1,8	1,8
Huile de colza	20	20	20	20
Huile de tournesol	2	2	2	2
Huile d'arachide	18	18	18	18
Mélange minéral	35	35	35	35
Mélange vitaminique	10	10	10	10
Bitartrate de choline	2,5	2,5	2,5	2,5
Rutine	0	5	0	5
Lactose	100	100	100	100
Saccharose	127	127	620,7	620,7
Cellulose	50	45	50	45
Amidon de blé	493,7	493,7	0	0
Total	1000	1000	1000	1000

Tableau 2 : Mélange minéral

Minéraux	Sans supplémentation	Avec supplémentation
	en g / kg de mélange minéral	
Carbonate de Ca	357	357
Phosphate monopotassique	250	250
NaCl	74	74
Sulfate de potassium	46,6	46,6
Citrate de potassium 1 H2O	28	28
Oxyde de Mg	24	24
Citrate ferrique	6,06	6,06
Carbonate de Zn	**1,65**	**2,95**
Carbonate de Mn	0,63	0,63
Carbonate de Cu	0,3	0,3
Iodure de potassium	0,01	0,01
Sélénite de Na anhydre	**0,01025**	**0,14**
Molybdate d'ammonium, 4 H2O	0,00795	0,00795
Metasilicate de Na, 9H2O	1,45	1,45
Sulfate de chrome potassium, 12 H2O	0,275	0,275
Acide borique	0,0815	0,0815
Fluorure de Na	0,0635	0,0635
Carbonate de Ni	0,0318	0,0318
Chlorure de lithium	0,0174	0,0174
Vanadate d'ammonuim	0,0066	0,0066
Amidon	qsp 1000	qsp 1000

Tableau 3 : Mélange vitaminique

Vitamines	Sans supplémentation	Avec supplémentation
	en g ou UI / kg de mélange vitaminique	
Acide nicotinique (PP ou B3), g	3	3
D-pantothénate de Ca (B5), g	1,6	1,6
PyridoxineHCl (B6), g	0,7	0,7
Thiamine HCl (B1), g	0,6	0,6
Riboflavine (B2), g	0,6	0,6
Acide folique (B9), g	0,2	0,2
D-biotine (B8), g	0,02	0,02
Cyanocobalamine (B12), g	2,5	2,5
Acétate di-alpha-tocophérol (E), UI	**7100**	**30 000**
Vitamine A, UI	**400 000**	**800 000**
Vitamine D3-cholécalciférol, UI	**100 000**	**500 000**
Vitamine K – phylloquinone, g	0,075	0,075
Amidon	qsp 1000g	qsp 1000g

REFERENCES

Aagaard, P., Suetta, C., Caserotti, P., Magnusson, S.P., Kjær, M., 2010. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. Scand. J. Med. Sci. Sports 20, 49–64. doi:10.1111/j.1600-0838.2009.01084.x

Abdelmalek, M.F., Suzuki, A., Guy, C., Unalp-Arida, A., Colvin, R., Johnson, R.J., Diehl, A.M., 2010. Increased Fructose Consumption Is Associated With Fibrosis Severity In Patients With NAFLD. Hepatol. Baltim. Md 51, 1961–1971. doi:10.1002/hep.23535

Adelman, R.C., Ballard, F.J., Weinhouse, S., 1967. Purification and Properties of Rat Liver Fructokinase. J. Biol. Chem. 242, 3360–3365.

Aeberli, I., Gerber, P.A., Hochuli, M., Kohler, S., Haile, S.R., Gouni-Berthold, I., Berthold, H.K., Spinas, G.A., Berneis, K., 2011. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. Am. J. Clin. Nutr. 94, 479–485. doi:10.3945/ajcn.111.013540

Afkhami - Ardekani, M., Karimi, M., Mohammad Mohammadi, S., Nourani, F., 2008. Effect of Zinc Sulfate Supplementation on Lipid and Glucose in Type 2 Diabetic Patients. Pak. J. Nutr. 7, 550–553. doi:10.3923/pjn.2008.550.553

Agrawal, R., Gomez-Pinilla, F., 2012. "Metabolic syndrome" in the brain: deficiency in omega-3 fatty acid exacerbates dysfunctions in insulin receptor signalling and cognition. J. Physiol. 590, 2485–2499. doi:10.1113/jphysiol.2012.230078

Aguirre, V., Uchida, T., Yenush, L., Davis, R., White, M.F., 2000. The c-Jun NH2-terminal Kinase Promotes Insulin Resistance during Association with Insulin Receptor Substrate-1 and Phosphorylation of Ser307. J. Biol. Chem. 275, 9047–9054. doi:10.1074/jbc.275.12.9047

Aguirre, V., Werner, E.D., Giraud, J., Lee, Y.H., Shoelson, S.E., White, M.F., 2002. Phosphorylation of Ser307 in Insulin Receptor Substrate-1 Blocks Interactions with the Insulin Receptor and Inhibits Insulin Action. J. Biol. Chem. 277, 1531–1537. doi:10.1074/jbc.M101521200

Aimo, L., Cherr, G.N., Oteiza, P.I., 2010. Low Extracellular Zinc Increases Neuronal Oxidant Production Through NADPH Oxidase and Nitric Oxide Synthase Activation. Free Radic. Biol. Med. 48, 1577–1587. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.02.040

Akbaraly, T.N., Akbaraly, N.T., Hininger-Favier, I., Carrière, I., Arnaud, J., Gourlet, V., Roussel, A.-M., Berr, C., 2007. Plasma selenium over time and cognitive decline in the elderly. Epidemiol. Camb. Mass 18, 52–58. doi:10.1097/01.ede.0000248202.83695.4e

Al-Maroof, R.A., Al-Sharbatti, S.S., 2006. Serum zinc levels in diabetic patients and effect of zinc supplementation on glycemic control of type 2 diabetics. Saudi Med. J. 27, 344–350.

Al-Rasheed, N., Al-Rasheed, N., Bassiouni, Y., Faddah, L., Mohamad, A.M., 2014. Potential Protective Effects of *Nigella Sativa* and *Allium Sativum* Against Fructose-Induced Metabolic Syndrome in Rats. J. Oleo Sci. 63, 839–848. doi:10.5650/jos.ess14027

Al-Sofiani, M.E., Jammah, A., Racz, M., Khawaja, R.A., Hasanato, R., El-Fawal, H.A.N., Mousa, S.A., Mason, D.L., 2015. Effect of Vitamin D Supplementation

on Glucose Control and Inflammatory Response in Type II Diabetes: A Double Blind, Randomized Clinical Trial. Int. J. Endocrinol. Metab. 13. doi:10.5812/ijem.22604

Alam, M.M., Ahmad, I., Naseem, I., 2015. Inhibitory effect of quercetin in the formation of advance glycation end products of human serum albumin: An in vitro and molecular interaction study. Int. J. Biol. Macromol. 79, 336–343. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.05.004

Alcalá, M., Sánchez-Vera, I., Sevillano, J., Herrero, L., Serra, D., Ramos, M.P., Viana, M., 2015. Vitamin E reduces adipose tissue fibrosis, inflammation, and oxidative stress and improves metabolic profile in obesity. Obesity 23, 1598–1606. doi:10.1002/oby.21135

Alemán-Mateo, H., Teros, M.T.L., C, F.A.R., Astiazarán-García, H., 2014. Association Between Insulin Resistance and Low Relative Appendicular Skeletal Muscle Mass: Evidence From a Cohort Study in Community-Dwelling Older Men and Women Participants. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 69, 871–877. doi:10.1093/gerona/glt193

Alipanah, N., Varadhan, R., Sun, K., Ferrucci, L., Fried, L.P., SEMBA, R.D., 2009. Low serum carotenoids are associated with a decline in walking speed in older women. J. Nutr. Health Aging 13, 170–175.

Alvarez, J.A., Ashraf, A., 2010. Role of Vitamin D in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity for Glucose Homeostasis. Int. J. Endocrinol. 2010. doi:10.1155/2010/351385

Aly, H.F., Mantawy, M.M., 2012. Comparative effects of zinc, selenium and vitamin E or their combination on carbohydrate metabolizing enzymes and oxidative stress in streptozotocin induced-diabetic rats. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 16, 66–78.

Amati, F., Dubé, J.J., Coen, P.M., Stefanovic-Racic, M., Toledo, F.G.S., Goodpaster, B.H., 2009. Physical Inactivity and Obesity Underlie the Insulin Resistance of Aging. Diabetes Care 32, 1547–1549. doi:10.2337/dc09-0267

Amer, M., Qayyum, R., 2012. Relation Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and C-Reactive Protein in Asymptomatic Adults (From the Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2006). Am. J. Cardiol. 109, 226–230. doi:10.1016/j.amjcard.2011.08.032

Andersen, J.L., 2003. Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. Scand. J. Med. Sci. Sports 13, 40–47.

Anhê, G.F., Okamoto, M.M., Kinote, A., Sollon, C., Lellis-Santos, C., Anhê, F.F., Lima, G.A., Hirabara, S.M., Velloso, L.A., Bordin, S., Machado, U.F., 2012. Quercetin decreases inflammatory response and increases insulin action in skeletal muscle of ob/ob mice and in L6 myotubes. Eur. J. Pharmacol. 689, 285–293. doi:10.1016/j.ejphar.2012.06.007

Annweiler, C., Schott, A.-M., Berrut, G., Fantino, B., Beauchet, O., 2010. Vitamin D-related changes in physical performance: A systematic review. J. Nutr. Health Aging 13, 893–898. doi:10.1007/s12603-009-0248-x

Aparicio-Vergara, M., Hommelberg, P.P.H., Schreurs, M., Gruben, N., Stienstra, R., Shiri-Sverdlov, R., Kloosterhuis, N.J., de Bruin, A., van de Sluis, B., Koonen, D.P.Y., Hofker, M.H., 2013. Tumor necrosis factor receptor 1 gain-of-function

mutation aggravates nonalcoholic fatty liver disease but does not cause insulin resistance in a murine model*. Hepatology 57, 566–576. doi:10.1002/hep.26046

Arias, N., Macarulla, M.T., Aguirre, L., Martínez-Castaño, M.G., Portillo, M.P., 2014. Quercetin can reduce insulin resistance without decreasing adipose tissue and skeletal muscle fat accumulation. Genes Nutr. 9. doi:10.1007/s12263-013-0361-7

Arnal, M.A., Mosoni, L., Boirie, Y., Houlier, M.L., Morin, L., Verdier, E., Ritz, P., Antoine, J.M., Prugnaud, J., Beaufrère, B., Mirand, P.P., 1999. Protein pulse feeding improves protein retention in elderly women. Am. J. Clin. Nutr. 69, 1202–1208.

Arnal, M.-A., Mosoni, L., Dardevet, D., Ribeyre, M.-C., Bayle, G., Prugnaud, J., Mirand, P.P., 2002. Pulse Protein Feeding Pattern Restores Stimulation of Muscle Protein Synthesis during the Feeding Period in Old Rats. J. Nutr. 132, 1002–1008.

Ashraf, J.M., Shahab, U., Tabrez, S., Lee, E.J., Choi, I., Ahmad, S., 2015. Quercetin as a finer substitute to aminoguanidine in the inhibition of glycation products. Int. J. Biol. Macromol. 77, 188–192. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.03.021

Austenaa, L.M.I., Ross, A.C., 2001. Potentiation of interferon-γ-stimulated nitric oxide production by retinoic acid in RAW 264.7 cells. J. Leukoc. Biol. 70, 121–129.

Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Oxid. Med. Cell. Longev. 2014. doi:10.1155/2014/360438

Babujanarthanam, R., Kavitha, P., Pandian, M.R., 2010. Quercitrin, a bioflavonoid improves glucose homeostasis in streptozotocin-induced diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. Fundam. Clin. Pharmacol. 24, 357–364. doi:10.1111/j.1472-8206.2009.00771.x

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, 325–331. doi:10.1016/j.jnutbio.2009.01.005

Balagopal, P., Rooyackers, O.E., Adey, D.B., Ades, P.A., Nair, K.S., 1997. Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 273, E790–E800.

Ballou, S.P., Lozanski, G.B., Hodder, S., Rzewnicki, D.L., Mion, L.C., Sipe, J.D., Ford, A.B., Kushner, I., 1996. Quantitative and Qualitative Alterations of Acute-phase Proteins in Healthy Elderly Persons. Age Ageing 25, 224–230. doi:10.1093/ageing/25.3.224

Banks, W.A., Morley, J.E., 2000. Endocrine and metabolic changes in human aging. J. Am. Aging Assoc. 23, 103–115. doi:10.1007/s11357-000-0011-z

Bantle, J.P., Raatz, S.K., Thomas, W., Georgopoulos, A., 2000. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. Am. J. Clin. Nutr. 72, 1128–1134.

Barry, B.K., Carson, R.G., 2004. The consequences of resistance training for movement control in older adults. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 59, 730–754.

Basaria, S., Coviello, A.D., Travison, T.G., Storer, T.W., Farwell, W.R., Jette, A.M., Eder, R., Tennstedt, S., Ulloor, J., Zhang, A., Choong, K., Lakshman, K.M., Mazer, N.A., Miciek, R., Krasnoff, J., Elmi, A., Knapp, P.E., Brooks, B., Appleman, E., Aggarwal, S., Bhasin, G., Hede-Brierley, L., Bhatia, A., Collins, L., LeBrasseur, N., Fiore, L.D., Bhasin, S., 2010. Adverse Events Associated with Testosterone Administration. N. Engl. J. Med. 363, 109–122. doi:10.1056/NEJMoa1000485

Basualto-AlarcóN, C., Jorquera, G., Altamirano, F., Jaimovich, E., Estrada, M., 2013. Testosterone Signals through mTOR and Androgen Receptor to Induce Muscle Hypertrophy: Med. Sci. Sports Exerc. 45, 1712–1720. doi:10.1249/MSS.0b013e31828cf5f3

Batandier, C., Leverve, X., Fontaine, E., 2004. Opening of the Mitochondrial Permeability Transition Pore Induces Reactive Oxygen Species Production at the Level of the Respiratory Chain Complex I. J. Biol. Chem. 279, 17197–17204. doi:10.1074/jbc.M310329200

Bates, C.J., Thane, C.W., Prentice, A., Trevor Delves, H., 2002. Selenium status and its correlates in a British National Diet and Nutrition Survey: people aged 65 years and over. J. Trace Elem. Med. Biol. 16, 1–8. doi:10.1016/S0946-672X(02)80002-5

Baumgartner, R.N., Koehler, K.M., Gallagher, D., Romero, L., Heymsfield, S.B., Ross, R.R., Garry, P.J., Lindeman, R.D., 1998. Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. Am. J. Epidemiol. 147, 755–763.

Bazzocchi, A., Diano, D., Ponti, F., Andreone, A., Sassi, C., Albisinni, U., Marchesini, G., Battista, G., 2013. Health and ageing: A cross-sectional study of body composition. Clin. Nutr. 32, 569–578. doi:10.1016/j.clnu.2012.10.004

Beaudart, C., Reginster, J.Y., Slomian, J., Buckinx, F., Dardenne, N., Quabron, A., Slangen, C., Gillain, S., Petermans, J., Bruyère, O., 2015. Estimation of sarcopenia prevalence using various assessment tools. Exp. Gerontol. 61, 31–37. doi:10.1016/j.exger.2014.11.014

Beaudart, C., Rizzoli, R., Bruyère, O., Reginster, J.-Y., Biver, E., 2014. Sarcopenia: burden and challenges for public health. Arch. Public Health 72. doi:10.1186/2049-3258-72-45

Beck, J., Ferrucci, L., Sun, K., Walston, J., Fried, L.P., Varadhan, R., Guralnik, J.M., Semba, R.D., 2007. Low serum selenium concentrations are associated with poor grip strength among older women living in the community. BioFactors Oxf. Engl. 29, 37–44.

Beilharz, J.E., Maniam, J., Morris, M.J., 2014. Short exposure to a diet rich in both fat and sugar or sugar alone impairs place, but not object recognition memory in rats. Brain. Behav. Immun. 37, 134–141. doi:10.1016/j.bbi.2013.11.016

Bellia, A., Garcovich, C., D' Adamo, M., Lombardo, M., Tesauro, M., Donadel, G., Gentileschi, P., Lauro, D., Federici, M., Lauro, R., Sbraccia, P., 2011. Serum 25-hydroxyvitamin D levels are inversely associated with systemic inflammation in severe obese subjects. Intern. Emerg. Med. 8, 33–40. doi:10.1007/s11739-011-0559-x

Berr, C., Arnaud, J., Akbaraly, T.N., 2012. Selenium and cognitive impairment: A brief-review based on results from the EVA study. BioFactors 38, 139–144. doi:10.1002/biof.1003

Berry, D.C., Noy, N., 2009. All-trans-Retinoic Acid Represses Obesity and Insulin Resistance by Activating both Peroxisome Proliferation-Activated Receptor β/δ and Retinoic Acid Receptor. Mol. Cell. Biol. 29, 3286–3296. doi:10.1128/MCB.01742-08

Bertolotti, M., Lonardo, A., Mussi, C., Baldelli, E., Pellegrini, E., Ballestri, S., Romagnoli, D., Loria, P., 2014. Nonalcoholic fatty liver disease and aging: Epidemiology to management. World J. Gastroenterol. WJG 20, 14185–14204. doi:10.3748/wjg.v20.i39.14185

Bhasin, S., Woodhouse, L., Casaburi, R., Singh, A.B., Bhasin, D., Berman, N., Chen, X., Yarasheski, K.E., Magliano, L., Dzekov, C., Dzekov, J., Bross, R., Phillips, J., Sinha-Hikim, I., Shen, R., Storer, T.W., 2001. Testosterone dose-response relationships in healthy young men. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 281, E1172–E1181.

Bischoff, H.A., Borchers, M., Gudat, F., Duermueller, U., Theiler, R., Stähelin, H.B., Dick, W., 2001. In Situ Detection of 1,25-dihydroxyvitamin D Receptor In human Skeletal Muscle Tissue. Histochem. J. 33, 19–24. doi:10.1023/A:1017535728844

Bischoff-Ferrari, H.A., Dietrich, T., Orav, E.J., Hu, F.B., Zhang, Y., Karlson, E.W., Dawson-Hughes, B., 2004. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged ≥60 y. Am. J. Clin. Nutr. 80, 752–758.

Bismut, H., Hers, H.-G., Van SCHAFTINGEN, E., 1993. Conversion of fructose to glucose in the rabbit small intestine. Eur. J. Biochem. 213, 721–726. doi:10.1111/j.1432-1033.1993.tb17812.x

Bjorkman, O., Crump, M., Phillips, R.W., 1984. Intestinal Metabolism of Orally Administered Glucose and Fructose in Yucatan Miniature Swine. J. Nutr. 114, 1413–1420.

Black, R.N.A., Spence, M., McMahon, R.O., Cuskelly, G.J., Ennis, C.N., McCance, D.R., Young, I.S., Bell, P.M., Hunter, S.J., 2006. Effect of Eucaloric High- and Low-Sucrose Diets With Identical Macronutrient Profile on Insulin Resistance and Vascular Risk A Randomized Controlled Trial. Diabetes 55, 3566–3572. doi:10.2337/db06-0220

Bleys, J., Navas-Acien, A., Guallar, E., 2007. Serum Selenium and Diabetes in U.S. Adults. Diabetes Care 30, 829–834. doi:10.2337/dc06-1726

Blouet, C., Mariotti, F., Azzout-Marniche, D., Mathé, V., Mikogami, T., Tomé, D., Huneau, J.-F., 2007. Dietary cysteine alleviates sucrose-induced oxidative stress and insulin resistance. Free Radic. Biol. Med. 42, 1089–1097. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.006

Bobard, A., Hainault, I., Ferré, P., Foufelle, F., Bossard, P., 2005. Differential Regulation of Sterol Regulatory Element-binding Protein 1c Transcriptional Activity by Insulin and Liver X Receptor during Liver Development. J. Biol. Chem. 280, 199–206. doi:10.1074/jbc.M406522200

Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M.P., Maubois, J.L., Beaufrère, B., 1997a. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94, 14930–14935.

Boirie, Y., Gachon, P., Beaufrère, B., 1997b. 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., Beaufrère, B., 2001. Differential insulin sensitivities of glucose, amino acid, and albumin metabolism in elderly men and women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 86, 638–644. doi:10.1210/jcem.86.2.7193

Boirie, Y., Short, K.R., Ahlman, B., Charlton, M., Nair, K.S., 2001. Tissue-Specific Regulation of Mitochondrial and Cytoplasmic Protein Synthesis Rates by Insulin. Diabetes 50, 2652–2658. doi:10.2337/diabetes.50.12.2652

Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M., Bast, A., 2008. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. Eur. J. Pharmacol., 100 Years of Pharmacology in The Netherlands 585, 325–337. doi:10.1016/j.ejphar.2008.03.008

Bouillanne, O., Curis, E., Hamon-Vilcot, B., Nicolis, I., Chrétien, P., Schauer, N., Vincent, J.-P., Cynober, L., Aussel, C., 2013. Impact of protein pulse feeding on lean mass in malnourished and at-risk hospitalized elderly patients: A randomized controlled trial. Clin. Nutr. 32, 186–192. doi:10.1016/j.clnu.2012.08.015

Bouillanne, O., Neveux, N., Nicolis, I., Curis, E., Cynober, L., Aussel, C., 2014. Long-lasting improved amino acid bioavailability associated with protein pulse feeding in hospitalized elderly patients: A randomized controlled trial. Nutrition 30, 544–550. doi:10.1016/j.nut.2013.10.006

Braga, M., Hikim, A.P.S., Datta, S., Ferrini, M.G., Brown, D., Kovacheva, E.L., Gonzalez-Cadavid, N.F., Sinha-Hikim, I., 2008. Involvement of oxidative stress and caspase 2-mediated intrinsic pathway signaling in age-related increase in muscle cell apoptosis in mice. Apoptosis 13, 822–832. doi:10.1007/s10495-008-0216-7

Bray, G.A., Nielsen, S.J., Popkin, B.M., 2004. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am. J. Clin. Nutr. 79, 537–543.

Bray, G.A., Popkin, B.M., 2013. Calorie-sweetened beverages and fructose: what have we learned 10 years later. Pediatr. Obes. 8, 242–248. doi:10.1111/j.2047-6310.2013.00171.x

Breen, L., Stokes, K.A., Churchward-Venne, T.A., Moore, D.R., Baker, S.K., Smith, K., Atherton, P.J., Phillips, S.M., 2013. Two Weeks of Reduced Activity Decreases Leg Lean Mass and Induces "Anabolic Resistance" of Myofibrillar Protein Synthesis in Healthy Elderly. J. Clin. Endocrinol. Metab. 98, 2604–2612. doi:10.1210/jc.2013-1502

Briones, T.L., Darwish, H., 2014. Decrease in age-related tau hyperphosphorylation and cognitive improvement following vitamin D supplementation are associated with modulation of brain energy metabolism and redox state. Neuroscience 262, 143–155. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.12.064

Briones, T.L., Darwish, H., 2012. Vitamin D mitigates age-related cognitive decline through the modulation of pro-inflammatory state and decrease in amyloid burden. J. Neuroinflammation 9, 244. doi:10.1186/1742-2094-9-244

Bruunsgaard, H., Andersen-Ranberg, K., Jeune, B., Pedersen, A.N., Skinhøj, P., Pedersen, B.K., 1999. A High Plasma Concentration of TNF-α Is Associated With Dementia in Centenarians. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 54, M357–M364. doi:10.1093/gerona/54.7.M357

Burant, C.F., Takeda, J., Brot-Laroche, E., Bell, G.I., Davidson, N.O., 1992. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. J. Biol. Chem. 267, 14523–14526.

Busserolles, J., Rock, E., Gueux, E., Mazur, A., Grolier, P., Rayssiguier, Y., 2002. Short-term consumption of a high-sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats. Br. J. Nutr. 87, 337–342. doi:10.1079/BJN2002524

Cabrera-Valladares, G., German, M.S., Matschinsky, F.M., Wang, J., Fernandez-Mejia, C., 1999. Effect of Retinoic Acid on Glucokinase Activity and Gene Expression and on Insulin Secretion in Primary Cultures of Pancreatic Islets [1]. Endocrinology 140, 3091–3096. doi:10.1210/endo.140.7.6765

Cagnol, S., Chambard, J.-C., 2010. ERK and cell death: Mechanisms of ERK-induced cell death – apoptosis, autophagy and senescence. FEBS J. 277, 2–21. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07366.x

Cai, D., Frantz, J.D., Tawa Jr., N.E., Melendez, P.A., Oh, B.-C., Lidov, H.G.W., Hasselgren, P.-O., Frontera, W.R., Lee, J., Glass, D.J., Shoelson, S.E., 2004. IKKβ/NF-κB Activation Causes Severe Muscle Wasting in Mice. Cell 119, 285–298. doi:10.1016/j.cell.2004.09.027

Calvani, R., Miccheli, A., Landi, F., Bossola, M., Cesari, M., Leeuwenburgh, C., Sieber, C.C., Bernabei, R., Marzetti, E., 2013. Current nutritional recommendations and novel dietary strategies to manage sarcopenia. J Frailty Aging 2, 38–53.

Cangussu, L.M., Nahas-Neto, J., Orsatti, C.L., Bueloni-Dias, F.N., Nahas, E. a. P., 2015. Effect of vitamin D supplementation alone on muscle function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Osteoporos. Int. 1–9. doi:10.1007/s00198-015-3151-9

Cannizzo, B., Luján, A., Estrella, N., Lembo, C., Cruzado, M., Castro, C., 2012. Insulin Resistance Promotes Early Atherosclerosis via Increased Proinflammatory Proteins and Oxidative Stress in Fructose-Fed ApoE-KO Mice. J. Diabetes Res. 2012, e941304. doi:10.1155/2012/941304

Capdor, J., Foster, M., Petocz, P., Samman, S., 2013. Zinc and glycemic control: A meta-analysis of randomised placebo controlled supplementation trials in humans. J. Trace Elem. Med. Biol. 27, 137–142. doi:10.1016/j.jtemb.2012.08.001

Capel, F., Buffière, C., Patureau Mirand, P., Mosoni, L., 2004. Differential variation of mitochondrial H2O2 release during aging in oxidative and glycolytic muscles in rats. Mech. Ageing Dev. 125, 367–373. doi:10.1016/j.mad.2004.02.005

Capel, F., Prod'Homme, M., Béchet, 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. doi:10.1016/j.jnutbio.2008.05.017

Capel, F., Rimbert, V., Lioger, D., Diot, A., Rousset, P., Mirand, P.P., Boirie, Y., Morio, B., Mosoni, L., 2005. Due to reverse electron transfer, mitochondrial H2O2 release increases with age in human vastus lateralis muscle although oxidative capacity is preserved. Mech. Ageing Dev. 126, 505–511. doi:10.1016/j.mad.2004.11.001

Carter, C.S., Cesari, M., Ambrosius, W.T., Hu, N., Diz, D., Oden, S., Sonntag, W.E., Pahor, M., 2004. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition, Body Composition, and Physical Performance in Aged Rats. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 59, B416–B423. doi:10.1093/gerona/59.5.B416

Carvalho, C., Cardoso, S., Correia, S.C., Santos, R.X., Santos, M.S., Baldeiras, I., Oliveira, C.R., Moreira, P.I., 2012. Metabolic Alterations Induced by Sucrose Intake and Alzheimer's Disease Promote Similar Brain Mitochondrial Abnormalities. Diabetes 61, 1234–1242. doi:10.2337/db11-1186

Castellani, R., Smith, M.A., Richey, G.L., Perry, G., 1996. Glycoxidation and oxidative stress in Parkinson disease and diffuse Lewy body disease. Brain Res. 737, 195–200. doi:10.1016/0006-8993(96)00729-9

Catena, C., Giacchetti, G., Novello, M., Colussi, G., Cavarape, A., Sechi, L.A., 2003. Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with Fructose-Induced hypertension*. Am. J. Hypertens. 16, 973–978. doi:10.1016/S0895-7061(03)01002-1

Cawthon, P.M., Fox, K.M., Gandra, S.R., Delmonico, M.J., Chiou, C.-F., Anthony, M.S., Sewall, A., Goodpaster, B., Satterfield, S., Cummings, S.R., Harris, T.B., 2009. Do muscle mass, muscle density, strength and physical function similarly influence risk of hospitalization in older adults? J. Am. Geriatr. Soc. 57, 1411–1419. doi:10.1111/j.1532-5415.2009.02366.x

Cesari M, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, et al, 2005. Lipoprotein peroxidation and mobility limitation: Results from the health, aging, and body composition study. Arch. Intern. Med. 165, 2148–2154. doi:10.1001/archinte.165.18.2148

Cesari, M., Pahor, M., Bartali, B., Cherubini, A., Penninx, B.W., Williams, G.R., Atkinson, H., Martin, A., Guralnik, J.M., Ferrucci, L., 2004. Antioxidants and physical performance in elderly persons: the Invecchiare in Chianti (InCHIANTI) study. Am. J. Clin. Nutr. 79, 289–294.

Cha, J.-Y., Repa, J.J., 2007. The Liver X Receptor (LXR) and Hepatic Lipogenesis THE CARBOHYDRATE-RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN IS A TARGET GENE OF LXR. J. Biol. Chem. 282, 743–751. doi:10.1074/jbc.M605023200

Cha, S.H., Wolfgang, M., Tokutake, Y., Chohnan, S., Lane, M.D., 2008. Differential effects of central fructose and glucose on hypothalamic malonyl–CoA and food intake. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 16871–16875. doi:10.1073/pnas.0809255105

Chabi, B., Ljubicic, V., Menzies, K.J., Huang, J.H., Saleem, A., Hood, D.A., 2008. Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. Aging Cell 7, 2–12. doi:10.1111/j.1474-9726.2007.00347.x

Chang, Y.-C., Lee, T.-S., Chiang, A.-N., 2012. Quercetin enhances ABCA1 expression and cholesterol efflux through a p38-dependent pathway in macrophages. J. Lipid Res. 53, 1840–1850. doi:10.1194/jlr.M024471

Chavakis, T., Bierhaus, A., Nawroth, P.P., 2004. RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. Microbes Infect. 6, 1219–1225. doi:10.1016/j.micinf.2004.08.004

Chen, H., Qiu, Q., Zou, C., Dou, L., Liang, J., 2015. Regulation of hepatic carbohydrate metabolism by Selenium during diabetes. Chem. Biol. Interact. 232, 1–6. doi:10.1016/j.cbi.2015.02.017

Chen, J., Ivashkiv, L.B., 2010. IFN-γ abrogates endotoxin tolerance by facilitating Toll-like receptor-induced chromatin remodeling. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 19438–19443. doi:10.1073/pnas.1007816107

Cheng, A.W.M., Stabler, T.V., Bolognesi, M., Kraus, V.B., 2011. Selenomethionine Inhibits IL-1β Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and Cyclooxygenase 2 (COX2) Expression in Primary Human Chondrocytes. Osteoarthr. Cartil. OARS Osteoarthr. Res. Soc. 19, 118–125. doi:10.1016/j.joca.2010.10.019

Chmielnicka, J., Zaręba, G., Witasik, M., Brzeźnicka, E., 1988. Zinc-selenium interaction in the rat. Biol. Trace Elem. Res. 15, 267–276. doi:10.1007/BF02990143

Chobot, V., Hadacek, F., Kubicova, L., 2014. Effects of Selected Dietary Secondary Metabolites on Reactive Oxygen Species Production Caused by Iron(II) Autoxidation. Mol. Basel Switz. 19, 20023–20033. doi:10.3390/molecules191220023

Chong, M.F.-F., Fielding, B.A., Frayn, K.N., 2007. Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. Am. J. Clin. Nutr. 85, 1511–1520.

Chuffa, L.G.A., Fioruci-Fontanelli, B.A., Bordon, J.G., Pires, R.B., Braga, C.P., Seiva, F.R.F., Fernandes, A.A.H., 2014. Rutin ameliorates glycemic index, lipid profile and enzymatic activities in serum, heart and liver tissues of rats fed with a combination of hypercaloric diet and chronic ethanol consumption. Indian J. Biochem. Biophys. 51, 215–222.

Chun, M.-R., Lee, Y.J., Kim, K.-H., Kim, Y.-W., Park, S.-Y., Lee, K.-M., Kim, J.-Y., Park, Y.-K., 2010. Differential Effects of High-carbohydrate and High-fat Diet Composition on Muscle Insulin Resistance in Rats. J. Korean Med. Sci. 25, 1053–1059. doi:10.3346/jkms.2010.25.7.1053

Chung, H.Y., Cesari, M., Anton, S., Marzetti, E., Giovannini, S., Seo, A.Y., Carter, C., Yu, B.P., Leeuwenburgh, C., 2009. Molecular Inflammation: Underpinnings of Aging and Age-related Diseases. Ageing Res. Rev. 8, 18–30. doi:10.1016/j.arr.2008.07.002

Clavel, S., Coldefy, A.-S., Kurkdjian, E., Salles, J., Margaritis, I., Derijard, B., 2006. Atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1 are up-regulated in aged rat Tibialis Anterior muscle. Mech. Ageing Dev. 127, 794–801. doi:10.1016/j.mad.2006.07.005

Cohen, A.M., Teitelbaum, A., 1964. Effect of dietary sucrose and starch on oral glucose tolerance and insulin-like activity. Am. J. Physiol. -- Leg. Content 206, 105–108.

Coker, R.H., Hays, N.P., Williams, R.H., Wolfe, R.R., Evans, W.J., 2015. Bed Rest Promotes Reductions in Walking Speed, Functional Parameters, and Aerobic Fitness in Older, Healthy Adults. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 70, 91–96. doi:10.1093/gerona/glu123

Colbert, L.H., Visser, M., Simonsick, E.M., Tracy, R.P., Newman, A.B., Kritchevsky, S.B., Pahor, M., Taaffe, D.R., Brach, J., Rubin, S., Harris, T.B., 2004. Physical Activity, Exercise, and Inflammatory Markers in Older Adults: Findings from The Health, Aging and Body Composition Study. J. Am. Geriatr. Soc. 52, 1098–1104. doi:10.1111/j.1532-5415.2004.52307.x

Coleman, R.A., Lee, D.P., 2004. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. Prog. Lipid Res. 43, 134–176. doi:10.1016/S0163-7827(03)00051-1

Coma, M., Guix, F.X., Ill-Raga, G., Uribesalgo, I., Alameda, F., Valverde, M.A., Muñoz, F.J., 2008. Oxidative stress triggers the amyloidogenic pathway in human vascular smooth muscle cells. Neurobiol. Aging 29, 969–980. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.01.009

Combaret, L., Dardevet, D., Rieu, I., Pouch, M.-N., Béchet, 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. doi:10.1113/jphysiol.2005.098004

Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol. 283, L246–L255. doi:10.1152/ajplung.00491.2001

Conte, V., Uryu, K., Fujimoto, S., Yao, Y., Rokach, J., Longhi, L., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., McIntosh, T.K., Praticò, D., 2004. Vitamin E reduces amyloidosis and improves cognitive function in Tg2576 mice following repetitive concussive brain injury. J. Neurochem. 90, 758–764. doi:10.1111/j.1471-4159.2004.02560.x

Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J., 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. FASEB J. 17, 1195–1214. doi:10.1096/fj.02-0752rev

Coombes, J.S., Rowell, B., Dodd, S.L., Demirel, H.A., Naito, H., Shanely, A.R., Powers, S.K., 2002. Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. Eur. J. Appl. Physiol. 87, 272–277. doi:10.1007/s00421-002-0631-3

Corcoran, J.P.T., So, P.L., Maden, M., 2004. Disruption of the retinoid signalling pathway causes a deposition of amyloid β in the adult rat brain. Eur. J. Neurosci. 20, 896–902. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03563.x

Cortese-Krott, M.M., Kulakov, L., Opländer, C., Kolb-Bachofen, V., Kröncke, K.-D., Suschek, C.V., 2014. Zinc regulates iNOS-derived nitric oxide formation in endothelial cells. Redox Biol. 2, 945–954. doi:10.1016/j.redox.2014.06.011

Cox, C.L., Stanhope, K.L., Schwarz, J.M., Graham, J.L., Hatcher, B., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Berglund, L., McGahan, J.P., Havel, P.J., Keim, N.L., 2012. Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks reduces net fat oxidation and energy expenditure in overweight/obese men and women. Eur. J. Clin. Nutr. 66, 201–208. doi:10.1038/ejcn.2011.159

Crouch, P.J., Harding, S.-M.E., White, A.R., Camakaris, J., Bush, A.I., Masters, C.L., 2008. Mechanisms of Aβ mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 40, 181–198. doi:10.1016/j.biocel.2007.07.013

Cruz-Jentoft, A.J., Baeyens, J.P., Bauer, J.M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., Martin, F.C., Michel, J.-P., Rolland, Y., Schneider, S.M., Topinková, E.,

Vandewoude, M., Zamboni, M., 2010. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis. Age Ageing 39, 412–423. doi:10.1093/ageing/afq034

Cummings, B.P., Stanhope, K.L., Graham, J.L., Evans, J.L., Baskin, D.G., Griffen, S.C., Havel, P.J., 2010. Dietary fructose accelerates the development of diabetes in UCD-T2DM rats: amelioration by the antioxidant, α-lipoic acid. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 298, R1343–R1350. doi:10.1152/ajpregu.00468.2009

Cuthbertson, D., Smith, K., Babraj, J., Leese, G., Waddell, T., Atherton, P., Wackerhage, H., Taylor, P.M., Rennie, M.J., 2004. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. FASEB J. doi:10.1096/fj.04-2640fje

D'Alessandro, M.E., Chicco, A., Lombardo, Y.B., 2013. Fish oil reverses the altered glucose transporter, phosphorylation, insulin receptor substrate-1 protein level and lipid contents in the skeletal muscle of sucrose-rich diet fed rats. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 88, 171–177. doi:10.1016/j.plefa.2012.11.003

Dai, X., Ding, Y., Zhang, Z., Cai, X., Bao, L., Li, Y., 2013. Quercetin But Not Quercitrin Ameliorates Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Insulin Resistance in C2C12 Skeletal Muscle Cells. Biol. Pharm. Bull. 36, 788–795.

Dalal, M., Ferrucci, L., Sun, K., Beck, J., Fried, L.P., Semba, R.D., 2009. Elevated Serum Advanced Glycation End Products and Poor Grip Strength in Older Community-Dwelling Women. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 64A, 132–137. doi:10.1093/gerona/gln018

Dangin, M., Guillet, C., Garcia-Rodenas, C., Gachon, P., Bouteloup-Demange, C., Reiffers-Magnani, K., Fauquant, J., Ballèvre, O., Beaufrère, B., 2003. The Rate of Protein Digestion affects Protein Gain Differently during Aging in Humans. J. Physiol. 549, 635–644. doi:10.1113/jphysiol.2002.036897

Dardevet, D., Rémond, D., Peyron, M.-A., Papet, I., Savary-Auzeloux, I., Mosoni, L., 2012. Muscle Wasting and Resistance of Muscle Anabolism: The "Anabolic Threshold Concept" for Adapted Nutritional Strategies during Sarcopenia. Sci. World J. 2012. doi:10.1100/2012/269531

Dardevet, D., Sornet, C., Attaix, D., Baracos, V.E., Grizard, J., 1994. Insulin-like growth factor-1 and insulin resistance in skeletal muscles of adult and old rats. Endocrinology 134, 1475–1484. doi:10.1210/endo.134.3.8119189

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., Taillandier, D., Savary, I., Attaix, D., Grizard, J., 1995. Sensitivity and protein turnover response to glucocorticoids are different in skeletal muscle from adult and old rats. Lack of regulation of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in aging. J. Clin. Invest. 96, 2113–2119.

Dargelos, E., Brulé, C., Combaret, L., Hadj-Sassi, A., Dulong, S., Poussard, S., Cottin, P., 2007. Involvement of the calcium-dependent proteolytic system in skeletal muscle aging. Exp. Gerontol. 42, 1088–1098. doi:10.1016/j.exger.2007.08.009

Datta, P.K., Lianos, E.A., 1999. Retinoic acids inhibit inducible nitric oxide synthase expression in mesangial cells. Kidney Int. 56, 486–493. doi:10.1046/j.1523-1755.1999.00576.x

Dentin, R., Girard, J., Postic, C., 2005. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. Biochimie, New developments in metabolic syndrome 87, 81–86. doi:10.1016/j.biochi.2004.11.008

Di Girolamo, F.G., Situlin, R., Mazzucco, S., Valentini, R., Toigo, G., Biolo, G., 2014. Omega-3 fatty acids and protein metabolism: enhancement of anabolic interventions for sarcopenia. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 17, 145–150. doi:10.1097/MCO.0000000000000032

Dickstein, D.L., Kabaso, D., Rocher, A.B., Luebke, J.I., Wearne, S.L., Hof, P.R., 2007. Changes in the structural complexity of the aged brain. Aging Cell 6, 275–284. doi:10.1111/j.1474-9726.2007.00289.x

Dif, N., Euthine, V., Gonnet, E., Laville, M., Vidal, H., Lefai, E., 2006. Insulin activates human sterol-regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1c) promoter through SRE motifs. Biochem. J. 400, 179–188. doi:10.1042/BJ20060499

Ding, Y., Qiao, A., Wang, Z., Goodwin, J.S., Lee, E.-S., Block, M.L., Allsbrook, M., McDonald, M.P., Fan, G.-H., 2008. Retinoic Acid Attenuates β-Amyloid Deposition and Rescues Memory Deficits in an Alzheimer's Disease Transgenic Mouse Model. J. Neurosci. 28, 11622–11634. doi:10.1523/JNEUROSCI.3153-08.2008

Ding, Y., Vaziri, N.D., Coulson, R., Kamanna, V.S., Roh, D.D., 2000. Effects of simulated hyperglycemia, insulin, and glucagon on endothelial nitric oxide synthase expression. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 279, E11–E17.

Dolan, L.C., Potter, S.M., Burdock, G.A., 2009. Evidence-Based Review on the Effect of Normal Dietary Consumption of Fructose on Development of Hyperlipidemia and Obesity in Healthy, Normal Weight Individuals. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 50, 53–84. doi:10.1080/10408390903461426

Douard, V., Ferraris, R.P., 2008. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 295, E227–E237. doi:10.1152/ajpendo.90245.2008

Douard, V., Patel, C., Lee, J., Tharabenjasin, P., Williams, E., Fritton, J.C., Sabbagh, Y., Ferraris, R.P., 2014. Chronic High Fructose Intake Reduces Serum 1,25 (OH)2D3 Levels in Calcium-Sufficient Rodents. PLoS ONE 9. doi:10.1371/journal.pone.0093611

Dreyer, H.C., Fujita, S., Cadenas, J.G., Chinkes, D.L., Volpi, E., Rasmussen, B.B., 2006. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. J. Physiol. 576, 613–624. doi:10.1113/jphysiol.2006.113175

Dröge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. Physiol. Rev. 82, 47–95. doi:10.1152/physrev.00018.2001

Drozdowski, L., Thomson, A.B., 2006. Aging and the intestine. World J. Gastroenterol. WJG 12, 7578–7584. doi:10.3748/wjg.v12.i47.7578

Drummond, M.J., Dickinson, J.M., Fry, C.S., Walker, D.K., Gundermann, D.M., Reidy, P.T., Timmerman, K.L., Markofski, M.M., Paddon-Jones, D., Rasmussen, B.B., Volpi, E., 2012. Bed rest impairs skeletal muscle amino acid transporter expression, mTORC1 signaling, and protein synthesis in response to essential amino acids in older adults. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 302, E1113–E1122. doi:10.1152/ajpendo.00603.2011

Du, J., Wang, X., Miereles, C., Bailey, J.L., Debigare, R., Zheng, B., Price, S.R., Mitch, W.E., 2004. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. J. Clin. Invest. 113, 115–123. doi:10.1172/JCI200418330

Edwards, R.L., Lyon, T., Litwin, S.E., Rabovsky, A., Symons, J.D., Jalili, T., 2007. Quercetin Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects. J. Nutr. 137, 2405–2411.

El-Shenawy, N.S., AL-Harbi, M.S., Hamza, R.Z., 2015. Effect of vitamin E and selenium separately and in combination on biochemical, immunological and histological changes induced by sodium azide in male mice. Exp. Toxicol. Pathol. 67, 65–76. doi:10.1016/j.etp.2014.10.005

Elwyn, D.H., Parikh, H.C., Shoemaker, W.C., 1968. Amino acid movements between gut, liver, and periphery in unanesthetized dogs. Am. J. Physiol. -- Leg. Content 215, 1260–1275.

Emmelot-Vonk, M.H., Verhaar, H.J.J., Nakhai Pour, H.R., Aleman, A., Lock, T.M.T.W., Bosch, J.L.H.R., Grobbee, D.E., van der Schouw, Y.T., 2008. Effect of Testosterone Supplementation on Functional Mobility, Cognition, and Other Parameters in Older Men: A Randomized Controlled Trial. JAMA 299. doi:10.1001/jama.2007.51

Engelhart, M.J., Geerlings, M.I., Meijer, J., Kiliaan, A., Ruitenberg, A., van Swieten, J.C., Stijnen, T., Hofman, A., Witteman, J.C.M., Breteler, M.M.B., 2004. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the rotterdam study. Arch. Neurol. 61, 668–672. doi:10.1001/archneur.61.5.668

European Food Safety Authority, 2006. Tolerable Upper Intake Levels for Vitmains and Minerals. European Food Safety Authority.

Faeh, D., Minehira, K., Schwarz, J.-M., Periasamy, R., Park, S., Tappy, L., 2005. Effect of Fructose Overfeeding and Fish Oil Administration on Hepatic De Novo Lipogenesis and Insulin Sensitivity in Healthy Men. Diabetes 54, 1907–1913. doi:10.2337/diabetes.54.7.1907

Falcone, C., Bozzini, S., D'Angelo, A., Matrone, B., Colonna, A., Benzi, A., Paganini, E.M., Falcone, R., Pelissero, G., 2013. Plasma Levels of Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products and Coronary Atherosclerosis: Possible Correlation with Clinical Presentation. Dis. Markers 35, 135–140. doi:10.1155/2013/129360

Fang, Y.-Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition 18, 872–879. doi:10.1016/S0899-9007(02)00916-4

Farina, N., Isaac, M.G.E.K.N., Clark, A.R., Rusted, J., Tabet, N., 2012. Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment, in: Cochrane Database of Systematic Reviews. John Wiley & Sons, Ltd.

Faure, P., Barclay, D., Joyeux-Faure, M., Halimi, S., 2007. Comparison of the effects of zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E on insulin sensitivity and oxidative stress in high-fructose-fed rats. J. Trace Elem. Med. Biol. Organ Soc. Miner. Trace Elem. GMS 21, 113–119. doi:10.1016/j.jtemb.2006.12.005

Faure, P., Rossini, E., Lafond, J.L., Richard, M.J., Favier, A., Halimi, S., 1997. Vitamin E Improves the Free Radical Defense System Potential and Insulin Sensitivity of Rats Fed High Fructose Diets. J. Nutr. 127, 103–107.

Favero, T.G., Zable, A.C., Abramson, J.J., 1995. Hydrogen peroxide stimulates the Ca2+ release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. J. Biol. Chem. 270, 25557–25563.

Felipe, F., Bonet, M.L., Ribot, J., Palou, A., 2004. Modulation of Resistin Expression by Retinoic Acid and Vitamin A Status. Diabetes 53, 882–889. doi:10.2337/diabetes.53.4.882

Fernandes, A.A.H., Novelli, E.L.B., Okoshi, K., Okoshi, M.P., Muzio, B.P.D., Guimarães, J.F.C., Junior, A.F., 2010. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. Biomed. Pharmacother. 64, 214–219. doi:10.1016/j.biopha.2009.08.007

Ferrara, A., Barrett-Connor, E., Shan, J., 1997. Total, LDL, and HDL Cholesterol Decrease With Age in Older Men and Women The Rancho Bernardo Study 1984–1994. Circulation 96, 37–43. doi:10.1161/01.CIR.96.1.37

Fielding, R., 2011. Sarcopenia: An Undiagnosed Condition in Older Adults. Current Consensus Definition: Prevalence, Etiology, and Consequences. J. Am. Med. Dir. Assoc. 12, 249–256. doi:10.1016/j.jamda.2011.01.003

Fink, R.I., Kolterman, O.G., Griffin, J., Olefsky, J.M., 1983. Mechanisms of Insulin Resistance in Aging. J. Clin. Invest. 71, 1523–1535.

Foster, K.G., Fingar, D.C., 2010. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR): Conducting the Cellular Signaling Symphony. J. Biol. Chem. 285, 14071–14077. doi:10.1074/jbc.R109.094003

Fox, I.H., Kelley, W.N., 1972. Studies on the mechanism of fructose-induced hyperuricemia in man. Metabolism 21, 713–721. doi:10.1016/0026-0495(72)90120-5

Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., Ottaviani, E., De Benedictis, G., 2000. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. Ann. N. Y. Acad. Sci. 908, 244–254.

Francini, F., Castro, M.C., Schinella, G., García, M.E., Maiztegui, B., Raschia, M.A., Gagliardino, J.J., Massa, M.L., 2010. Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system. Life Sci. 86, 965–971. doi:10.1016/j.lfs.2010.05.005

Frey, S.K., Vogel, S., 2011. Vitamin A Metabolism and Adipose Tissue Biology. Nutrients 3, 27–39. doi:10.3390/nu3010027

Frost, R.A., Nystrom, G.J., Lang, C.H., 2009. Endotoxin and interferon-γ inhibit translation in skeletal muscle cells by stimulating nitric oxide synthase activity. Shock Augusta Ga 32, 416–426. doi:10.1097/SHK.0b013e3181a034d2

Frost, R.A., Nystrom, G.J., Lang, C.H., 2004. Lipopolysaccharide stimulates nitric oxide synthase-2 expression in murine skeletal muscle and C(2)C(12)

myoblasts via Toll-like receptor-4 and c-Jun NH(2)-terminal kinase pathways. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 287, C1605–1615. doi:10.1152/ajpcell.00010.2004

Fujita, S., Glynn, E.L., Timmerman, K.L., Rasmussen, B.B., Volpi, E., 2009. Supraphysiological hyperinsulinemia 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. doi:10.1007/s00125-009-1430-8

Fujita, S., Rasmussen, B.B., Cadenas, J.G., Drummond, M.J., Glynn, E.L., Sattler, F.R., Volpi, E., 2007. Aerobic Exercise Overcomes the Age-Related Insulin Resistance of Muscle Protein Metabolism by Improving Endothelial Function and Akt/Mammalian Target of Rapamycin Signaling. Diabetes 56, 1615–1622. doi:10.2337/db06-1566

Fukagawa, N.K., Minaker, K.L., Rowe, J.W., Goodman, M.N., Matthews, D.E., Bier, D.M., Young, V.R., 1985. Insulin-mediated reduction of whole body protein breakdown. Dose-response effects on leucine metabolism in postabsorptive men. J. Clin. Invest. 76, 2306–2311.

Fukagawa, N.K., Minaker, K.L., Young, V.R., Matthews, D.E., Bier, D.M., Rowe, J.W., 1989. Leucine metabolism in aging humans: effect of insulin and substrate availability. Am. J. Physiol. 256, E288–294.

Gaens, K.H.J., Niessen, P.M.G., Rensen, S.S., Buurman, W.A., Greve, J.W.M., Driessen, A., Wolfs, M.G.M., Hofker, M.H., Bloemen, J.G., Dejong, C.H., Stehouwer, C.D.A., Schalkwijk, C.G., 2012. Endogenous formation of Nε-(carboxymethyl)lysine is increased in fatty livers and induces inflammatory markers in an in vitro model of hepatic steatosis. J. Hepatol. 56, 647–655. doi:10.1016/j.jhep.2011.07.028

Gallagher, D., Visser, M., Meersman, R.E.D., Sepúlveda, D., Baumgartner, R.N., Pierson, R.N., Harris, T., Heymsfield, S.B., 1997. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. J. Appl. Physiol. 83, 229–239.

Gedik, P.O., Akahn, S., 1986. Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man. Diabetologia 29, 142–145. doi:10.1007/BF02427083

Gelain, D.P., de Bittencourt Pasquali, M.A., Caregnato, F.F., Moreira, J.C.F., 2011. Vitamin A (retinol) up-regulates the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) through p38 and Akt oxidant-dependent activation. Toxicology 289, 38–44. doi:10.1016/j.tox.2011.07.008

Geloneze, B., de Oliveira, M. da S., Vasques, A.C.J., Novaes, F.S., Pareja, J.C., Tambascia, M.A., 2014. Impaired incretin secretion and pancreatic dysfunction with older age and diabetes. Metabolism 63, 922–929. doi:10.1016/j.metabol.2014.04.004

Geusens, P., Vandevyver, C., Vanhoof, J., Cassiman, J.J., Boonen, S., Raus, J., 1997. Quadriceps and grip strength are related to vitamin D receptor genotype in elderly nonobese women. J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res. 12, 2082–2088. doi:10.1359/jbmr.1997.12.12.2082

Giannoulis, M.G., Martin, F.C., Nair, K.S., Umpleby, A.M., Sonksen, P., 2012. Hormone replacement therapy and physical function in healthy older men. Time to talk hormones? Endocr. Rev. 33, 314–377. doi:10.1210/er.2012-1002

Gibson, S., Gunn, P., Wittekind, A., Cottrell, R., 2013. The Effects of Sucrose on Metabolic Health: A Systematic Review of Human Intervention Studies in Healthy Adults. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 53, 591–614. doi:10.1080/10408398.2012.691574

Girard, A., Madani, S., Boukortt, F., Cherkaoui-Malki, M., Belleville, J., Prost, J., 2006. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. Nutrition 22, 758–766. doi:10.1016/j.nut.2006.05.006

Giresi, P.G., Stevenson, E.J., Theilhaber, J., Koncarevic, A., Parkington, J., Fielding, R.A., Kandarian, S.C., 2005. Identification of a molecular signature of sarcopenia. Physiol. Genomics 21, 253–263. doi:10.1152/physiolgenomics.00249.2004

Gissel, H., 2006. The Role of Ca2+ in Muscle Cell Damage. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1066, 166–180. doi:10.1196/annals.1363.013

Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W., Cong, J., 2003. The Calpain System. Physiol. Rev. 83, 731–801. doi:10.1152/physrev.00029.2002

Grankvist, K., Marklund, S.L., Täljedal, I.B., 1981. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. Biochem. J. 199, 393–398.

Grant, A.M., Christie, M.R., Ashcroft, S.J.H., 1980. Insulin release from human pancreatic islets in vitro. Diabetologia 19, 114–117. doi:10.1007/BF00421856

Gray, G.M., Ingelfinger, F.J., 1966. Intestinal absorption of sucrose in man: interrelation of hydrolysis and monosaccharide product absorption. J. Clin. Invest. 45, 388–398.

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. doi:10.1096/fj.03-1341fje

Guillet, C., Zangarelli, A., Gachon, P., Morio, B., Giraudet, C., Rousset, P., Boirie, Y., 2004b. Whole body protein breakdown is less inhibited by insulin, but still responsive to amino acid, in nondiabetic elderly subjects. J. Clin. Endocrinol. Metab. 89, 6017–6024. doi:10.1210/jc.2003-031323

Guralnik, J.M., Ferrucci, L., Pieper, C.F., Leveille, S.G., Markides, K.S., Ostir, G.V., Studenski, S., Berkman, L.F., Wallace, R.B., 2000a. Lower Extremity Function and Subsequent Disability Consistency Across Studies, Predictive Models, and Value of Gait Speed Alone Compared With the Short Physical Performance Battery. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 55, M221–M231. doi:10.1093/gerona/55.4.M221

Guralnik, J.M., Ferrucci, L., Pieper, C.F., Leveille, S.G., Markides, K.S., Ostir, G.V., Studenski, S., Berkman, L.F., Wallace, R.B., 2000b. Lower Extremity Function and Subsequent Disability Consistency Across Studies, Predictive Models, and Value of Gait Speed Alone Compared With the Short Physical Performance Battery. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 55, M221–M231. doi:10.1093/gerona/55.4.M221

Guttridge, D.C., Mayo, M.W., Madrid, L.V., Wang, C.Y., Baldwin, A.S., 2000. NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. Science 289, 2363–2366.

Haddad, F., Zaldivar, F., Cooper, D.M., Adams, G.R., 2005. IL-6-induced skeletal muscle atrophy. J. Appl. Physiol. 98, 911–917. doi:10.1152/japplphysiol.01026.2004

Hagen, T.M., Yowe, D.L., Bartholomew, J.C., Wehr, C.M., Do, K.L., Park, J.-Y., Ames, B.N., 1997. Mitochondrial decay in hepatocytes from old rats: Membrane potential declines, heterogeneity and oxidants increase. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94, 3064–3069.

Halfon, M., Phan, O., Teta, D., 2015. Vitamin D: A Review on Its Effects on Muscle Strength, the Risk of Fall, and Frailty. BioMed Res. Int. 2015. doi:10.1155/2015/953241

Halimi, S., Studer, N., Faure, P., 2010. Le fructose : effet des régimes riches en fructose sur l'incidence de l'obésité, du syndrome métabolique, du diabète de type 2 et le risque cardiovasculaire et rénal. Médecine Mal. Métaboliques 4, 521–529.

Hall, D.T., Ma, J.F., Marco, S.D., Gallouzi, I.-E., 2011. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in muscle wasting syndrome, sarcopenia, and cachexia. Aging 3, 702–715.

Hamer, M., Molloy, G.J., 2009. Association of C-reactive protein and muscle strength in the English Longitudinal Study of Ageing. Age 31, 171–177. doi:10.1007/s11357-009-9097-0

Hanover, L.M., White, J.S., 1993. Manufacturing, composition, and applications of fructose. Am. J. Clin. Nutr. 58, 724S–732S.

Hao, Y., Ma, X., Luo, Y., Ni, J., Dou, J., Hu, Y., Zhu, J., Bao, Y., Jia, W., 2014. Serum vitamin D is associated with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese males with normal weight and liver enzymes. Acta Pharmacol. Sin. 35, 1150–1156. doi:10.1038/aps.2014.48

Harman, D., 1956. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. J. Gerontol. 11, 298–300. doi:10.1093/geronj/11.3.298

Harman, S.M., Metter, E.J., Tobin, J.D., Pearson, J., Blackman, M.R., Baltimore Longitudinal Study of Aging, 2001. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. J. Clin. Endocrinol. Metab. 86, 724–731. doi:10.1210/jcem.86.2.7219

Harsini, S.G., Habibiyan, M., Moeini, M.M., Abdolmohammadi, A.R., 2012. Effects of Dietary Selenium, Vitamin E, and Their Combination on Growth, Serum Metabolites, and Antioxidant Defense System in Skeletal Muscle of Broilers Under Heat Stress. Biol. Trace Elem. Res. 148, 322–330. doi:10.1007/s12011-012-9374-0

Hasselgren, P.O., 1999. Glucocorticoids and muscle catabolism. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 2, 201–205.

Haus, J.M., Carrithers, J.A., Trappe, S.W., Trappe, T.A., 2007. Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle. J. Appl. Physiol. 103, 2068–2076. doi:10.1152/japplphysiol.00670.2007

Hayden, M.S., Ghosh, S., 2008. Shared principles in NF-kappaB signaling. Cell 132, 344–362. doi:10.1016/j.cell.2008.01.020

Hegab, Z., Gibbons, S., Neyses, L., Mamas, M.A., 2012. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. World J. Cardiol. 4, 90–102. doi:10.4330/wjc.v4.i4.90

Heinz, F., Lamprecht, W., Kirsch, J., 1968. Enzymes of fructose metabolism in human liver. J. Clin. Invest. 47, 1826–1832.

Hirokawa, K., O'Shaughnessy, K.M., Ramrakha, P., Wilkins, M.R., 1994. Inhibition of nitric oxide synthesis in vascular smooth muscle by retinoids. Br. J. Pharmacol. 113, 1448–1454.

Ho, L., Qin, W., Pompl, P.N., Xiang, Z., Wang, J., Zhao, Z., Peng, Y., Cambareri, G., Rocher, A., Mobbs, C.V., Hof, P.R., Pasinetti, G.M., 2004. Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. FASEB J. doi:10.1096/fj.03-0978fje

Hochstrasser, M., 1995. Ubiquitin, proteasomes, and the regulation of intracellular protein degradation. Curr. Opin. Cell Biol. 7, 215–223. doi:10.1016/0955-0674(95)80031-X

Hoek-van den Hil, E.F., van Schothorst, E.M., van der Stelt, I., Swarts, H.J.M., van Vliet, M., Amolo, T., Vervoort, J.J.M., Venema, D., Hollman, P.C.H., Rietjens, I.M.C.M., Keijer, J., 2015. Direct comparison of metabolic health effects of the flavonoids quercetin, hesperetin, epicatechin, apigenin and anthocyanins in high-fat-diet-fed mice. Genes Nutr. 10. doi:10.1007/s12263-015-0469-z

Höhn, A., König, J., Grune, T., 2013. Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. J. Proteomics, Special Issue: Posttranslational Protein Modifications in Biology and Medicine 92, 132–159. doi:10.1016/j.jprot.2013.01.004

Holloway, P.A., Parsons, D.S., 1984. Absorption and metabolism of fructose by rat jejunum. Biochem. J. 222, 57–64.

House, W.A., Welch, R.M., 1989. Bioavailability of and Interactions between Zinc and Selenium in Rats Fed Wheat Grain Intrinsically Labeled with 65Zn and 75Se. J. Nutr. 119, 916–921.

Howard, C., Ferrucci, L., Sun, K., Fried, L.P., Walston, J., Varadhan, R., Guralnik, J.M., Semba, R.D., 2007. Oxidative protein damage is associated with poor grip strength among older women living in the community. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 103, 17–20. doi:10.1152/japplphysiol.00133.2007

Hsu, C.-Y., Shih, H.-Y., Chia, Y.-C., Lee, C.-H., Ashida, H., Lai, Y.-K., Weng, C.-F., 2014. Rutin potentiates insulin receptor kinase to enhance insulin-dependent glucose transporter 4 translocation. Mol. Nutr. Food Res. 58, 1168–1176. doi:10.1002/mnfr.201300691

Hsu, T.M., Konanur, V.R., Taing, L., Usui, R., Kayser, B.D., Goran, M.I., Kanoski, S.E., 2015. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. Hippocampus 25, 227–239. doi:10.1002/hipo.22368

Hu, Q.-H., Zhang, X., Pan, Y., Li, Y.-C., Kong, L.-D., 2012. Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid

accumulation in fructose-fed rats. Biochem. Pharmacol. 84, 113–125. doi:10.1016/j.bcp.2012.03.005

Hu, Z., Cha, S.H., Chohnan, S., Lane, M.D., 2003. Hypothalamic malonyl-CoA as a mediator of feeding behavior. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 12624–12629. doi:10.1073/pnas.1834402100

Hudgins, L.C., Hellerstein, M.K., Seidman, C.E., Neese, R.A., Tremaroli, J.D., Hirsch, J., 2000. Relationship between carbohydrate-induced hypertriglyceridemia and fatty acid synthesis in lean and obese subjects. J. Lipid Res. 41, 595–604.

Hwang, I.S., Ho, H., Hoffman, B.B., Reaven, G.M., 1987. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. Hypertension 10, 512–516. doi:10.1161/01.HYP.10.5.512

Ihm, S.-H., Matsumoto, I., Sawada, T., Nakano, M., Zhang, H.J., Ansite, J.D., Sutherland, D.E.R., Hering, B.J., 2006. Effect of Donor Age on Function of Isolated Human Islets. Diabetes 55, 1361–1368. doi:10.2337/db05-1333

Iizuka, K., Bruick, R.K., Liang, G., Horton, J.D., Uyeda, K., 2004. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 101, 7281–7286. doi:10.1073/pnas.0401516101

Ikeda, N.E.A., Novak, E.M., Maria, D.A., Velosa, A.S., Pereira, R.M.S., 2015. Synthesis, characterization and biological evaluation of Rutin–zinc(II) flavonoid -metal complex. Chem. Biol. Interact. 239, 184–191. doi:10.1016/j.cbi.2015.06.011

Insee - Population - Projections à l'horizon 2060 - Pyramide des âges [WWW Document], 2011. URL http://www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/irweb/projpop0760/dd/pyramide/pyramide.htm (accessed 7.31.15).

Intano, G.W., Cho, E.J., McMahan, C.A., Walter, C.A., 2003. Age-related Base Excision Repair Activity in Mouse Brain and Liver Nuclear Extracts. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 58, B205–B211. doi:10.1093/gerona/58.3.B205

Ishimoto, T., Lanaspa, M.A., Rivard, C.J., Roncal-Jimenez, C.A., Orlicky, D.J., Cicerchi, C., McMahan, R.H., Abdelmalek, M.F., Rosen, H.R., Jackman, M.R., MacLean, P.S., Diggle, C.P., Asipu, A., Inaba, S., Kosugi, T., Sato, W., Maruyama, S., Sánchez-Lozada, L.G., Sautin, Y.Y., Hill, J.O., Bonthron, D.T., Johnson, R.J., 2013. High Fat and High Sucrose (Western) Diet Induce Steatohepatitis that is Dependent on Fructokinase. Hepatol. Baltim. Md 58, 1632–1643. doi:10.1002/hep.26594

Iynedjian, P.B., 1993. Mammalian glucokinase and its gene. Biochem. J. 293, 1–13.

Jackson, A.S., Janssen, I., Sui, X., Church, T.S., Blair, S.N., 2012. Longitudinal changes in body composition associated with healthy ageing: men, aged 20–96 years. Br. J. Nutr. 107, 1085–1091. doi:10.1017/S0007114511003886

Jaiswal, N., Maurya, C.K., Pandey, J., Rai, A.K., Tamrakar, A.K., 2015. Fructose-induced ROS generation impairs glucose utilization in L6 skeletal muscle cells. Free Radic. Res. 1–44. doi:10.3109/10715762.2015.1031662

Jalal, D.I., Smits, G., Johnson, R.J., Chonchol, M., 2010. Increased Fructose Associates with Elevated Blood Pressure. J. Am. Soc. Nephrol. JASN 21, 1543–1549. doi:10.1681/ASN.2009111111

Jameel, F., Phang, M., Wood, L.G., Garg, M.L., 2014. Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. Lipids Health Dis. 13. doi:10.1186/1476-511X-13-195

Jang, Y.C., Van Remmen, H., 2011. Age-associated alterations of neuromuscular junction. Exp. Gerontol. 46, 193–198. doi:10.1016/j.exger.2010.08.029

Jansen, J., Karges, W., Rink, L., 2009. Zinc and diabetes — clinical links and molecular mechanisms. J. Nutr. Biochem. 20, 399–417. doi:10.1016/j.jnutbio.2009.01.009

Janssen, I., Heymsfield, S.B., Ross, R., 2002. Low Relative Skeletal Muscle Mass (Sarcopenia) in Older Persons Is Associated with Functional Impairment and Physical Disability. J. Am. Geriatr. Soc. 50, 889–896. doi:10.1046/j.1532-5415.2002.50216.x

Janssen, I., Heymsfield, S.B., Wang, Z., Ross, R., 2000. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. J. Appl. Physiol. 89, 81–88.

Janssen, I., Shepard, D.S., Katzmarzyk, P.T., Roubenoff, R., 2004. The Healthcare Costs of Sarcopenia in the United States. J. Am. Geriatr. Soc. 52, 80–85. doi:10.1111/j.1532-5415.2004.52014.x

Jensen, C.C., Cnop, M., Hull, R.L., Fujimoto, W.Y., Kahn, S.E., Group, the A.D.A.G.S., 2002. β-Cell Function Is a Major Contributor to Oral Glucose Tolerance in High-Risk Relatives of Four Ethnic Groups in the U.S. Diabetes 51, 2170–2178. doi:10.2337/diabetes.51.7.2170

Jeon, H.-J., Seo, M.-J., Choi, H.-S., Lee, O.-H., Lee, B.-Y., 2014. Gelidium elegans, an Edible Red Seaweed, and Hesperidin Inhibit Lipid Accumulation and Production of Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in 3T3-L1 and RAW264.7 Cells. Phytother. Res. 28, 1701–1709. doi:10.1002/ptr.5186

Jeong, S.-M., Kang, M.-J., Choi, H.-N., Kim, J.-H., Kim, J.-I., 2012. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. Nutr. Res. Pract. 6, 201–207. doi:10.4162/nrp.2012.6.3.201

Jeyakumar, S.M., Vajreswari, A., Giridharan, N.V., 2008. Vitamin A regulates obesity in WNIN/Ob obese rat; independent of stearoyl-CoA desaturase-1. Biochem. Biophys. Res. Commun. 370, 243–247. doi:10.1016/j.bbrc.2008.03.073

Jeyakumar, S.M., Vajreswari, A., Giridharan, N.V., 2007. Impact of Vitamin A on High-Density Lipoprotein-Cholesterol and Scavenger Receptor Class BI in the Obese Rat. Obesity 15, 322–329. doi:10.1038/oby.2007.534

Ji, H.-F., Sun, Y., Shen, L., 2014. Effect of vitamin E supplementation on aminotransferase levels in patients with NAFLD, NASH, and CHC: Results from a meta-analysis. Nutrition 30, 986–991. doi:10.1016/j.nut.2014.01.016

Ji, L.L., Dillon, D., Wu, E., 1990. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 258, R918–R923.

Jiang, Q., 2014. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and the role in disease prevention and therapy. Free Radic. Biol. Med. 72, 76–90. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035

Johnson, R.J., Perez-Pozo, S.E., Sautin, Y.Y., Manitius, J., Sanchez-Lozada, L.G., Feig, D.I., Shafiu, M., Segal, M., Glassock, R.J., Shimada, M., Roncal, C., Nakagawa,

T., 2009. Hypothesis: Could Excessive Fructose Intake and Uric Acid Cause Type 2 Diabetes? Endocr. Rev. 30, 96–116. doi:10.1210/er.2008-0033

Johnson, R.K., Frary, C., 2001. Choose Beverages and Foods to Moderate Your Intake of Sugars: The 2000 Dietary Guidelines for Americans—What's All the Fuss About? J. Nutr. 131, 2766S–2771S.

Joris, P.J., Mensink, R.P., 2015. Effects of Supplementation with the Fat-Soluble Vitamins E and D on Fasting Flow-Mediated Vasodilation in Adults: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Nutrients 7, 1728–1743. doi:10.3390/nu7031728

Jourdan, M., Deutz, N.E.P., Cynober, L., Aussel, C., 2011. Features, Causes and Consequences of Splanchnic Sequestration of Amino Acid in Old Rats. PLoS ONE 6. doi:10.1371/journal.pone.0027002

Jung, C.H., Cho, I., Ahn, J., Jeon, T.-I., Ha, T.-Y., 2013. Quercetin Reduces High-Fat Diet-Induced Fat Accumulation in the Liver by Regulating Lipid Metabolism Genes. Phytother. Res. 27, 139–143. doi:10.1002/ptr.4687

Jurdak, N., Kanarek, R.B., 2009. Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. Physiol. Behav. 96, 1–5. doi:10.1016/j.physbeh.2008.07.023

Jurdak, N., Lichtenstein, A.H., Kanarek, R.B., 2008. Diet-induced obesity and spatial cognition in young male rats. Nutr. Neurosci. 11, 48–54. doi:10.1179/147683008X301333

Kabashima, T., Kawaguchi, T., Wadzinski, B.E., Uyeda, K., 2003. Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 5107–5112. doi:10.1073/pnas.0730817100

Kaess, B.M., Rong, J., Larson, M.G., Hamburg, N.M., Vita, J.A., Levy, D., Benjamin, E.J., Vasan, R.S., Mitchell, G.F., 2012. Aortic Stiffness, Blood Pressure Progression, and Incident Hypertension. JAMA J. Am. Med. Assoc. 308, 875–881. doi:10.1001/2012.jama.10503

Kamei, Y., Miura, S., Suzuki, M., Kai, Y., Mizukami, J., Taniguchi, T., Mochida, K., Hata, T., Matsuda, J., Aburatani, H., Nishino, I., Ezaki, O., 2004. Skeletal Muscle FOXO1 (FKHR) Transgenic Mice Have Less Skeletal Muscle Mass, Down-regulated Type I (Slow Twitch/Red Muscle) Fiber Genes, and Impaired Glycemic Control. J. Biol. Chem. 279, 41114–41123. doi:10.1074/jbc.M400674200

Kampmann, U., Mosekilde, L., Juhl, C., Moller, N., Christensen, B., Rejnmark, L., Wamberg, L., Orskov, L., 2014. Effects of 12 weeks high dose vitamin D3 treatment on insulin sensitivity, beta cell function, and metabolic markers in patients with type 2 diabetes and vitamin D insufficiency – a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Metabolism 63, 1115–1124. doi:10.1016/j.metabol.2014.06.008

Kapoor, P., Kapoor, A., 2013. Hypertension in the elderly: A reappraisal. Clin. Queries Nephrol. 2, 71–77. doi:10.1016/j.cqn.2013.04.003

Karatug, A., Kaptan, E., Bolkent, S., Mutlu, O., Yanardag, R., 2013. Alterations in kidney tissue following zinc supplementation to STZ-induced diabetic rats. J. Trace Elem. Med. Biol. 27, 52–57. doi:10.1016/j.jtemb.2012.07.006

Katsanos, C.S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., Wolfe, R.R., 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. doi:10.1152/ajpendo.00488.2005

Katsanos, C.S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., Wolfe, R.R., 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, 1065–1073.

Kawamura, T., Yoshida, K., Sugawara, A., Nagasaka, M., Mori, N., Takeuchi, K., Kohzuki, M., 2002. Impact of Exercise and Angiotensin Converting Enzyme Inhibition on Tumor Necrosis Factor-α and Leptin in Fructose-Fed Hypertensive Rats. Hypertens. Res. 25, 919–926. doi:10.1291/hypres.25.919

Kawanishi, N., Tanaka, Y., Kato, Y., Shiva, D., Yano, H., 2008. Lipopolysaccharide-induced monocyte chemotactic protein-1 is enhanced by suppression of nitric oxide production, which depends on poor CD14 expression on the surface of skeletal muscle. Cell Biochem. Funct. 26, 486–492. doi:10.1002/cbf.1471

Kazumi, T., Odaka, H., Hozumi, T., Ishida, Y., Amano, N., Yoshino, G., 1997. Effects of Dietary Fructose or Glucose on Triglyceride Production and Lipogenic Enzyme Activities in the Liver of Wistar Fatty Rats, an Animal Model of NIDDM. Endocr. J. 44, 239–245. doi:10.1507/endocrj.44.239

Kelley, G.L., Allan, G., Azhar, S., 2004. High Dietary Fructose Induces a Hepatic Stress Response Resulting in Cholesterol and Lipid Dysregulation. Endocrinology 145, 548–555. doi:10.1210/en.2003-1167

Kenny, A.M., Biskup, B., Robbins, B., Marcella, G., Burleson, J.A., 2003. Effects of Vitamin D Supplementation on Strength, Physical Function, and Health Perception in Older, Community-Dwelling Men. J. Am. Geriatr. Soc. 51, 1762–1767. doi:10.1046/j.1532-5415.2003.51561.x

Kent-Braun, J.A., Ng, A.V., 2000. Skeletal muscle oxidative capacity in young and older women and men. J. Appl. Physiol. 89, 1072–1078.

Khanal, R.C., Howard, L.R., Wilkes, S.E., Rogers, T.J., Prior, R.L., 2010. Cranberry pomace partially ameliorates metabolic factors associated with high fructose feeding in growing Sprague–Dawley rats. J. Funct. Foods 2, 284–291. doi:10.1016/j.jff.2010.11.003

Khosla, U.M., Zharikov, S., Finch, J.L., Nakagawa, T., Roncal, C., Mu, W., Krotova, K., Block, E.R., Prabhakar, S., Johnson, R.J., 2005. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. Kidney Int. 67, 1739–1742. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.00273.x

Kim, J.E., Lee, Y.–., Huh, J.H., Kang, D.R., Rhee, Y., Lim, S.-K., 2014. Early-stage chronic kidney disease, insulin resistance, and osteoporosis as risk factors of sarcopenia in aged population: The Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES IV), 2008–2009. Osteoporos. Int. 25, 2189–2198. doi:10.1007/s00198-014-2745-y

Kim, J.-H., Kang, M.-J., Choi, H.-N., Jeong, S.-M., Lee, Y.-M., Kim, J.-I., 2011. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. Nutr. Res. Pract. 5, 107–111. doi:10.4162/nrp.2011.5.2.107

Kim, K.S., Suh, G.J., Kwon, W.Y., Kwak, Y.H., Lee, K., Lee, H.J., Jeong, K.Y., Lee, M.W., 2012. Antioxidant effects of selenium on lung injury in paraquat intoxicated rats. Clin. Toxicol. Phila. Pa 50, 749–753. doi:10.3109/15563650.2012.708418

Kim, Y., Kim, D.C., Cho, E.-S., Ko, S.-O., Kwon, W.Y., Suh, G.J., Shin, H.-K., 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. J. Inflamm. Lond. Engl. 11. doi:10.1186/s12950-014-0036-1

Kimball, S.R., Farrell, P.A., Jefferson, L.S., 2002. Invited Review: Role of insulin in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by amino acids or exercise. J. Appl. Physiol. 93, 1168–1180. doi:10.1152/japplphysiol.00221.2002

Kimur, T., Takamatsu, J., Ikeda, K., Kondo, A., Miyakawa, T., Horiuchi, S., 1996. Accumulation of advanced glycation end products of the Maillard reaction with age in human hippocampal neurons. Neurosci. Lett. 208, 53–56. doi:10.1016/0304-3940(96)12537-4

Kiss, C., Poór, G., Donáth, J., Jr, P.G., Paksy, A., Zajkás, G., Antal, M., 2003. Prevalence of obesity in an elderly Hungarian population. Eur. J. Epidemiol. 18, 653–658. doi:10.1023/A:1024994507436

Ko, S.-Y., Lin, Y.-P., Lin, Y.-S., Chang, S.-S., 2010. Advanced glycation end products enhance amyloid precursor protein expression by inducing reactive oxygen species. Free Radic. Biol. Med. 49, 474–480. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.05.005

Kobori, M., Masumoto, S., Akimoto, Y., Oike, H., 2011. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. Mol. Nutr. Food Res. 55, 530–540. doi:10.1002/mnfr.201000392

Koo, H.-Y., Miyashita, M., Simon Cho, B.H., Nakamura, M.T., 2009. Replacing dietary glucose with fructose increases ChREBP activity and SREBP-1 protein in rat liver nucleus. Biochem. Biophys. Res. Commun. 390, 285–289. doi:10.1016/j.bbrc.2009.09.109

Koo, H.-Y., Wallig, M.A., Chung, B.H., Nara, T.Y., Cho, B.H.S., Nakamura, M.T., 2008. Dietary fructose induces a wide range of genes with distinct shift in carbohydrate and lipid metabolism in fed and fasted rat liver. Biochim. Biophys. Acta 1782, 341–348. doi:10.1016/j.bbadis.2008.02.007

Koopman, R., Walrand, S., Beelen, M., Gijsen, A.P., Kies, A.K., Boirie, Y., Saris, W.H.M., van Loon, L.J.C., 2009. Dietary Protein Digestion and Absorption Rates and the Subsequent Postprandial Muscle Protein Synthetic Response Do Not Differ between Young and Elderly Men. J. Nutr. 139, 1707–1713. doi:10.3945/jn.109.109173

Kortebein, P., Ferrando, A., Lombeida, J., Wolfe, R., Evans, W.J., 2007. Effect of 10 days of bed rest on skeletal muscle in healthy older adults. JAMA 297, 1772–1774. doi:10.1001/jama.297.16.1772-b

Krasnoff, J.B., Basaria, S., Pencina, M.J., Jasuja, G.K., Vasan, R.S., Ulloor, J., Zhang, A., Coviello, A., Kelly-Hayes, M., D'Agostino, R.B., Wolf, P.A., Bhasin, S., Murabito, J.M., 2010. Free Testosterone Levels Are Associated with Mobility Limitation and Physical Performance in Community-Dwelling Men: The

Framingham Offspring Study. J. Clin. Endocrinol. Metab. 95, 2790–2799. doi:10.1210/jc.2009-2680

Krycer, J.R., Sharpe, L.J., Luu, W., Brown, A.J., 2010. The Akt–SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. Trends Endocrinol. Metab. 21, 268–276. doi:10.1016/j.tem.2010.01.001

Kuka, S., Tatarkova, Z., Racay, P., Lehotsky, J., Dobrota, D., Kaplan, P., 2013. Effect of aging on formation of reactive oxygen species by mitochondria of rat heart. Gen. Physiol. Biophys. 32, 415–420. doi:10.4149/gpb_2013049

Kwon, O., Eck, P., Chen, S., Corpe, C.P., Lee, J.-H., Kruhlak, M., Levine, M., 2007. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. FASEB J. 21, 366–377. doi:10.1096/fj.06-6620com

Kyle, U.G., Genton, L., Hans, D., Karsegard, L., Slosman, D.O., Pichard, C., 2001. Age-related differences in fat-free mass, skeletal muscle, body cell mass and fat mass between 18 and 94 years. Eur. J. Clin. Nutr. 55, 663–672. doi:10.1038/sj.ejcn.1601198

Lanaspa, M.A., Sanchez-Lozada, L.G., Choi, Y.-J., Cicerchi, C., Kanbay, M., Roncal-Jimenez, C.A., Ishimoto, T., Li, N., Marek, G., Duranay, M., Schreiner, G., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., Kang, D.-H., Sautin, Y.Y., Johnson, R.J., 2012a. Uric Acid Induces Hepatic Steatosis by Generation of Mitochondrial Oxidative Stress POTENTIAL ROLE IN FRUCTOSE-DEPENDENT AND -INDEPENDENT FATTY LIVER. J. Biol. Chem. 287, 40732–40744. doi:10.1074/jbc.M112.399899

Lanaspa, M.A., Sanchez-Lozada, L.G., Cicerchi, C., Li, N., Roncal-Jimenez, C.A., Ishimoto, T., Le, M., Garcia, G.E., Thomas, J.B., Rivard, C.J., Andres-Hernando, A., Hunter, B., Schreiner, G., Rodriguez-Iturbe, B., Sautin, Y.Y., Johnson, R.J., 2012b. Uric acid stimulates fructokinase and accelerates fructose metabolism in the development of fatty liver. PloS One 7, e47948. doi:10.1371/journal.pone.0047948

Lane, M.D., Cha, S.H., 2009. Effect of glucose and fructose on food intake via malonyl-CoA signaling in the brain. Biochem. Biophys. Res. Commun. 382, 1–5. doi:10.1016/j.bbrc.2009.02.145

Lang, C.H., Frost, R.A., Nairn, A.C., MacLean, D.A., Vary, T.C., 2002. TNF-α impairs heart and skeletal muscle protein synthesis by altering translation initiation. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 282, E336–E347. doi:10.1152/ajpendo.00366.2001

Larson, A.J., Symons, J.D., Jalili, T., 2012. Therapeutic Potential of Quercetin to Decrease Blood Pressure: Review of Efficacy and Mechanisms12. Adv. Nutr. 3, 39–46. doi:10.3945/an.111.001271

Latham, N.K., Anderson, C.S., Lee, A., Bennett, D.A., Moseley, A., Cameron, I.D., For The Fitness Collaborative Group, 2003. A Randomized, Controlled Trial of Quadriceps Resistance Exercise and Vitamin D in Frail Older People: The Frailty Interventions Trial in Elderly Subjects (FITNESS). J. Am. Geriatr. Soc. 51, 291–299. doi:10.1046/j.1532-5415.2003.51101.x

Latimer, C.S., Brewer, L.D., Searcy, J.L., Chen, K.-C., Popović, J., Kraner, S.D., Thibault, O., Blalock, E.M., Landfield, P.W., Porter, N.M., 2014. Vitamin D prevents cognitive decline and enhances hippocampal synaptic function in

aging rats. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 111, E4359–E4366. doi:10.1073/pnas.1404477111

Latulippe, M.E., Skoog, S.M., 2011. Fructose Malabsorption and Intolerance: Effects of Fructose with and without Simultaneous Glucose Ingestion. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 51, 583–592. doi:10.1080/10408398.2011.566646

Lauretani, F., Russo, C.R., Bandinelli, S., Bartali, B., Cavazzini, C., Iorio, A.D., Corsi, A.M., Rantanen, T., Guralnik, J.M., Ferrucci, L., 2003. Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. J. Appl. Physiol. 95, 1851–1860. doi:10.1152/japplphysiol.00246.2003

Lauretani, F., Semba, R.D., Bandinelli, S., Ray, A.L., Guralnik, J.M., Ferrucci, L., 2007. Association of low plasma selenium concentrations with poor muscle strength in older community-dwelling adults: the InCHIANTI Study. Am. J. Clin. Nutr. 86, 347–352.

Layne, M.D., Farmer, S.R., 1999. Tumor Necrosis Factor-α and Basic Fibroblast Growth Factor Differentially Inhibit the Insulin-like Growth Factor-I Induced Expression of Myogenin in C2C12 Myoblasts. Exp. Cell Res. 249, 177–187. doi:10.1006/excr.1999.4465

Lê, K.-A., Ith, M., Kreis, R., Faeh, D., Bortolotti, M., Tran, C., Boesch, C., Tappy, L., 2009. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. Am. J. Clin. Nutr. 89, 1760–1765. doi:10.3945/ajcn.2008.27336

Le, N.H., Kim, C.-S., Park, T., Park, J.H.Y., Sung, M.-K., Lee, D.G., Hong, S.-M., Choe, S.-Y., Goto, T., Kawada, T., Yu, R., 2014. Quercetin Protects against Obesity-Induced Skeletal Muscle Inflammation and Atrophy. Mediators Inflamm. 2014. doi:10.1155/2014/834294

Lee, B.M., Wolever, T.M., 1998. Effect of glucose, sucrose and fructose on plasma glucose and insulin responses in normal humans: comparison with white bread. Eur. J. Clin. Nutr. 52, 924–928.

Lee, C.-C., Hsu, W.-H., Shen, S.-R., Cheng, Y.-H., Wu, S.-C., 2012. Fagopyrum tataricum (Buckwheat) Improved High-Glucose-Induced Insulin Resistance in Mouse Hepatocytes and Diabetes in Fructose-Rich Diet-Induced Mice. Exp. Diabetes Res. 2012. doi:10.1155/2012/375673

Lee, C.G., Boyko, E.J., Barrett-Connor, E., Miljkovic, I., Hoffman, A.R., Everson-Rose, S.A., Lewis, C.E., Cawthon, P.M., Strotmeyer, E.S., Orwoll, E.S., 2011a. Insulin Sensitizers May Attenuate Lean Mass Loss in Older Men With Diabetes. Diabetes Care 34, 2381–2386. doi:10.2337/dc11-1032

Lee, C.G., Boyko, E.J., Strotmeyer, E.S., Lewis, C.E., Cawthon, P.M., Hoffman, A.R., Everson-Rose, S.A., Barrett-Connor, E., Orwoll, E.S., 2011b. Association Between Insulin Resistance and Lean Mass Loss and Fat Mass Gain in Older Men without Diabetes Mellitus. J. Am. Geriatr. Soc. 59, 1217–1224. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03472.x

Lee, S.W., Youm, Y., Lee, W.J., Choi, W., Chu, S.H., Park, Y.-R., Kim, H.C., 2015. Appendicular Skeletal Muscle Mass and Insulin Resistance in an Elderly Korean Population: The Korean Social Life, Health and Aging Project-Health

Examination Cohort. Diabetes Metab. J. 39, 37–45. doi:10.4093/dmj.2015.39.1.37

Lee, Y.M., Lee, J.O., Jung, J.-H., Kim, J.H., Park, S.-H., Park, J.M., Kim, E.-K., Suh, P.-G., Kim, H.S., 2008. Retinoic Acid Leads to Cytoskeletal Rearrangement through AMPK-Rac1 and Stimulates Glucose Uptake through AMPK-p38 MAPK in Skeletal Muscle Cells. J. Biol. Chem. 283, 33969–33974. doi:10.1074/jbc.M804469200

Leeuwenburgh, C., 2003. Role of Apoptosis in Sarcopenia. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 58, M999–M1001. doi:10.1093/gerona/58.11.M999

Leeuwenburgh, C., Fiebig, R., Chandwaney, R., Ji, L.L., 1994. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 267, R439–R445.

Lefebvre d'Hellencourt, C., Montero-Menei, C.N., Bernard, R., Couez, D., 2003. Vitamin D3 inhibits proinflammatory cytokines and nitric oxide production by the EOC13 microglial cell line. J. Neurosci. Res. 71, 575–582. doi:10.1002/jnr.10491

Lehner, R., Kuksis, A., 1996. Biosynthesis of triacylglycerols. Prog. Lipid Res. 35, 169–201. doi:10.1016/0163-7827(96)00005-7

Leung, C., Herath, C.B., Jia, Z., Goodwin, M., Mak, K.Y., Watt, M.J., Forbes, J.M., Angus, P.W., 2014. Dietary glycotoxins exacerbate progression of experimental fatty liver disease. J. Hepatol. 60, 832–838. doi:10.1016/j.jhep.2013.11.033

Levi, B., Werman, M.J., 1998. Long-Term Fructose Consumption Accelerates Glycation and Several Age-Related Variables in Male Rats. J. Nutr. 128, 1442–1449.

Lewis, R.D., Laing, E.M., 2015. Conflicting reports on vitamin D supplementation: Evidence from randomized controlled trials. Mol. Cell. Endocrinol., SI: Bone Health & Nutrition 410, 11–18. doi:10.1016/j.mce.2015.03.017

Lexell, J., Downham, D., Sjöström, M., 1986. Distribution of different fibre types in human skeletal muscles: Fibre type arrangement in m. vastus lateralis from three groups of healthy men between 15 and 83 years. J. Neurol. Sci. 72, 211–222. doi:10.1016/0022-510X(86)90009-2

Lexell, J., Henriksson-Larsén, K., Winblad, B., Sjöström, M., 1983. Distribution of different fiber types in human skeletal muscles: Effects of aging studied in whole muscle cross sections. Muscle Nerve 6, 588–595. doi:10.1002/mus.880060809

Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z.-G., Ghanbari, H.A., 2013. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. Int. J. Mol. Sci. 14, 24438–24475. doi:10.3390/ijms141224438

Li, L.-X., Dong, X.-H., Li, M.-F., Zhang, R., Li, T.-T., Shen, J., Shen, J., Bao, Y.-Q., Jia, W.-P., 2015. Serum uric acid levels are associated with hypertension and metabolic syndrome but not atherosclerosis in Chinese inpatients with type 2 diabetes. J. Hypertens. 33, 482–490. doi:10.1097/HJH.0000000000000417

Li, Y., Schwartz, R.J., Waddell, I.D., Holloway, B.R., Reid, M.B., 1998. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF-κB activation in response to tumor necrosis factor α. FASEB J. 12, 871–880.

Li, Y.-P., Chen, Y., John, J., Moylan, J., Jin, B., Mann, D.L., Reid, M.B., 2005. TNF-α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 19, 362–370. doi:10.1096/fj.04-2364com

Li, Y.P., Reid, M.B., 2000. NF-kappaB mediates the protein loss induced by TNF-alpha in differentiated skeletal muscle myotubes. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 279, R1165–1170.

Lim, J.S., Mietus-Snyder, M., Valente, A., Schwarz, J.-M., Lustig, R.H., 2010. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 7, 251–264. doi:10.1038/nrgastro.2010.41

Lin, J., Tarr, P.T., Yang, R., Rhee, J., Puigserver, P., Newgard, C.B., Spiegelman, B.M., 2003. PGC-1β in the Regulation of Hepatic Glucose and Energy Metabolism. J. Biol. Chem. 278, 30843–30848. doi:10.1074/jbc.M303643200

Lindqvist, A., Baelemans, A., Erlanson-Albertsson, C., 2008. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. Regul. Pept. 150, 26–32. doi:10.1016/j.regpep.2008.06.008

Liu, H.-W., Tsai, Y.-T., Chang, S.-J., 2014. Toona sinensis Leaf Extract Inhibits Lipid Accumulation through Up-regulation of Genes Involved in Lipolysis and Fatty Acid Oxidation in Adipocytes. J. Agric. Food Chem. 62, 5887–5896. doi:10.1021/jf500714c

Liu, S., Manson, J.E., Buring, J.E., Stampfer, M.J., Willett, W.C., Ridker, P.M., 2002. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. Am. J. Clin. Nutr. 75, 492–498.

Liu, Y., Wu, Y.-M., Zhang, P.-Y., 2015. Protective effects of curcumin and quercetin during benzo(a)pyrene induced lung carcinogenesis in mice. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 19, 1736–1743.

Llewellyn, D.J., Lang, I.A., Langa, K.M., Muniz-Terrera, G., Phillips, C.L., Cherubini, A., Ferrucci, L., Melzer, D., 2010. Vitamin D and Risk of Cognitive Decline in Elderly Persons. Arch. Intern. Med. 170, 1135–1141. doi:10.1001/archinternmed.2010.173

Llovera, M., García-Martínez, C., Agell, N., López-Soriano, F.J., Argilés, J.M., 1997. TNF Can Directly Induce the Expression of Ubiquitin-Dependent Proteolytic System in Rat Soleus Muscles. Biochem. Biophys. Res. Commun. 230, 238–241. doi:10.1006/bbrc.1996.5827

Lowell, B.B., Ruderman, N.B., Goodman, M.N., 1986. Evidence that lysosomes are not involved in the degradation of myofibrillar proteins in rat skeletal muscle. Biochem. J. 234, 237–240.

Lowndes, J., Sinnett, S., Yu, Z., Rippe, J., 2014. The Effects of Fructose-Containing Sugars on Weight, Body Composition and Cardiometabolic Risk Factors When Consumed at up to the 90th Percentile Population Consumption Level for Fructose. Nutrients 6, 3153–3168. doi:10.3390/nu6083153

Lu, Z., Pan, X., Hu, Y., Hao, Y., Luo, Y., Hu, X., Ma, X., Bao, Y., Jia, W., 2015. Serum vitamin D levels are inversely related with non-alcoholic fatty liver disease independent of visceral obesity in Chinese postmenopausal women. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 42, 139–145. doi:10.1111/1440-1681.12334

Luevano-Contreras, C., Chapman-Novakofski, K., 2010. Dietary Advanced Glycation End Products and Aging. Nutrients 2, 1247–1265. doi:10.3390/nu2121247

Lüth, H.-J., Ogunlade, V., Kuhla, B., Kientsch-Engel, R., Stahl, P., Webster, J., Arendt, T., Münch, G., 2005. Age- and Stage-dependent Accumulation of Advanced Glycation End Products in Intracellular Deposits in Normal and Alzheimer's Disease Brains. Cereb. Cortex 15, 211–220. doi:10.1093/cercor/bhh123

Madden, D.J., Spaniol, J., Costello, M.C., Bucur, B., White, L.E., Cabeza, R., Davis, S.W., Dennis, N.A., Provenzale, J.M., Huettel, S.A., 2009. Cerebral White Matter Integrity Mediates Adult Age Differences in Cognitive Performance. J. Cogn. Neurosci. 21, 289–302. doi:10.1162/jocn.2009.21047

Maehira, F., Luyo, G.A., Miyagi, I., Oshiro, M., Yamane, N., Kuba, M., Nakazato, Y., 2002. Alterations of serum selenium concentrations in the acute phase of pathological conditions. Clin. Chim. Acta 316, 137–146. doi:10.1016/S0009-8981(01)00744-6

Maehira, F., Miyagi, I., Eguchi, Y., 2003. Selenium regulates transcription factor NF-kappaB activation during the acute phase reaction. Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem. 334, 163–171.

Maersk, M., Belza, A., Stødkilde-Jørgensen, H., Ringgaard, S., Chabanova, E., Thomsen, H., Pedersen, S.B., Astrup, A., Richelsen, B., 2012. Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study. Am. J. Clin. Nutr. 95, 283–289. doi:10.3945/ajcn.111.022533

Mahmoud, M.F., Hassan, N.A., El Bassossy, H.M., Fahmy, A., 2013. Quercetin Protects against Diabetes-Induced Exaggerated Vasoconstriction in Rats: Effect on Low Grade Inflammation. PLoS ONE 8. doi:10.1371/journal.pone.0063784

Maljaars, J., Peters, H.P.F., Masclee, A.M., 2007. Review article: the gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. Aliment. Pharmacol. Ther. 26, 241–250. doi:10.1111/j.1365-2036.2007.03550.x

Maltais, M.L., Desroches, J., Dionne, I.J., 2009. Changes in muscle mass and strength after menopause. J. Musculoskelet. Neuronal Interact. 9, 186–197.

Mamo, J.C.L., Hirano, T., James, L., Szeto, L., Steiner, G., 1991. Partial characterization of the fructose-induced defect in very-low-density lipoprotein triglyceride metabolism. Metabolism 40, 888–893. doi:10.1016/0026-0495(91)90061-Z

Mangialasche, F., Solomon, A., Kåreholt, I., Hooshmand, B., Cecchetti, R., Fratiglioni, L., Soininen, H., Laatikainen, T., Mecocci, P., Kivipelto, M., 2013. Serum levels of vitamin E forms and risk of cognitive impairment in a Finnish cohort of older adults. Exp. Gerontol. 48, 1428–1435. doi:10.1016/j.exger.2013.09.006

Manini, T.M., Everhart, J.E., Anton, S.D., Schoeller, D.A., Cummings, S.R., Mackey, D.C., Delmonico, M.J., Bauer, D.C., Simonsick, E.M., Colbert, L.H., Visser, M., Tylavsky, F., Newman, A.B., Harris, T.B., 2009. Activity energy expenditure and change in body composition in late life123. Am. J. Clin. Nutr. 90, 1336–1342. doi:10.3945/ajcn.2009.27659

Manna, P.R., Sennoune, S.R., Martinez-Zaguilan, R., Slominski, A.T., Pruitt, K., n.d. Regulation of retinoid mediated cholesterol efflux involves liver X receptor

activation in mouse macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun. doi:10.1016/j.bbrc.2015.06.150

Markiewicz-Żukowska, R., Gutowska, A., Borawska, M.H., 2015. Serum Zinc Concentrations Correlate with Mental and Physical Status of Nursing Home Residents. PLoS ONE 10. doi:10.1371/journal.pone.0117257

Marriott, B.P., Cole, N., Lee, E., 2009. National Estimates of Dietary Fructose Intake Increased from 1977 to 2004 in the United States. J. Nutr. 139, 1228S–1235S. doi:10.3945/jn.108.098277

Marshall, T.A., Gilmore, J.M.E., Broffitt, B., Stumbo, P.J., Levy, S.M., 2005. Diet Quality in Young Children Is Influenced by Beverage Consumption. J. Am. Coll. Nutr. 24, 65–75. doi:10.1080/07315724.2005.10719445

Martinez, F.J., Rizza, R.A., Romero, J.C., 1994. High-fructose feeding elicits insulin resistance, hyperinsulinism, and hypertension in normal mongrel dogs. Hypertension 23, 456–463. doi:10.1161/01.HYP.23.4.456

Marzani, B., Balage, M., Vénien, 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. doi:10.3945/jn.108.094029

Marzani, B., Felzani, G., Bellomo, R.G., Vecchiet, J., Marzatico, F., 2005. Human muscle aging: ROS-mediated alterations in rectus abdominis and vastus lateralis muscles. Exp. Gerontol. 40, 959–965. doi:10.1016/j.exger.2005.08.010

Marzetti, E., Wohlgemuth, S.E., Lees, H.A., Chung, H.-Y., Giovannini, S., Leeuwenburgh, C., 2008. Age-related activation of mitochondrial caspase-independent apoptotic signaling in rat gastrocnemius muscle. Mech. Ageing Dev. 129, 542–549. doi:10.1016/j.mad.2008.05.005

Masiá, S., Alvarez, S., de Lera, A.R., Barettino, D., 2007. Rapid, Nongenomic Actions of Retinoic Acid on Phosphatidylinositol-3-Kinase Signaling Pathway Mediated by the Retinoic Acid Receptor. Mol. Endocrinol. 21, 2391–2402. doi:10.1210/me.2007-0062

Mastrocola, R., Collino, M., Rogazzo, M., Medana, C., Nigro, D., Boccuzzi, G., Aragno, M., 2013. Advanced glycation end products promote hepatosteatosis by interfering with SCAP-SREBP pathway in fructose-drinking mice. Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol. 305, G398–G407. doi:10.1152/ajpgi.00450.2012

Mates, J.M., Pérez-Gómez, C., De Castro, I.N., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin. Biochem. 32, 595–603. doi:10.1016/S0009-9120(99)00075-2

Mayes, P.A., 1993. Intermediary metabolism of fructose. Am. J. Clin. Nutr. 58, 754S–765S.

McGarry, J.D., Leatherman, G.F., Foster, D.W., 1978. Carnitine palmitoyltransferase I. The site of inhibition of hepatic fatty acid oxidation by malonyl-CoA. J. Biol. Chem. 253, 4128–4136.

McPherson, J.D., Shilton, B.H., Walton, D.J., 1988. Role of fructose in glycation and cross-linking of proteins. Biochemistry (Mosc.) 27, 1901–1907.

Mellen, P.B., Bleyer, A.J., Erlinger, T.P., Evans, G.W., Nieto, F.J., Wagenknecht, L.E., Wofford, M.R., Herrington, D.M., 2006. Serum Uric Acid Predicts Incident

Hypertension in a Biethnic Cohort The Atherosclerosis Risk in Communities Study. Hypertension 48, 1037–1042. doi:10.1161/01.HYP.0000249768.26560.66

Mendeloff, A.I., Weichselbaum, T.E., 1953. Role of the human liver in the assimilation of intravenously administered fructose. Metabolism. 2, 450–458.

Mielke, J.G., Taghibiglou, C., Liu, L., Zhang, Y., Jia, Z., Adeli, K., Wang, Y.T., 2005. A biochemical and functional characterization of diet-induced brain insulin resistance. J. Neurochem. 93, 1568–1578. doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03155.x

Mitch, W.E., Goldberg, A.L., 1996. Mechanisms of Muscle Wasting — The Role of the Ubiquitin–Proteasome Pathway. N. Engl. J. Med. 335, 1897–1905. doi:10.1056/NEJM199612193352507

Moghadaszadeh, B., Beggs, A.H., 2006. Selenoproteins and Their Impact on Human Health Through Diverse Physiological Pathways. Physiol. Bethesda Md 21, 307–315. doi:10.1152/physiol.00021.2006

Molinari, C., Uberti, F., Grossini, E., Vacca, G., Carda, S., Invernizzi, M., Cisari, C., 2011. 1α,25-Dihydroxycholecalciferol Induces Nitric Oxide Production in Cultured Endothelial Cells. Cell. Physiol. Biochem. 27, 661–668. doi:10.1159/000330075

Monetti, M., Levin, M.C., Watt, M.J., Sajan, M.P., Marmor, S., Hubbard, B.K., Stevens, R.D., Bain, J.R., Newgard, C.B., Farese Sr., R.V., Hevener, A.L., Farese Jr., R.V., 2007. Dissociation of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in Mice Overexpressing DGAT in the Liver. Cell Metab. 6, 69–78. doi:10.1016/j.cmet.2007.05.005

Moon, J., Do, H.-J., Kim, O.Y., Shin, M.-J., 2013. Antiobesity effects of quercetin-rich onion peel extract on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and the adipogenesis in high fat-fed rats. Food Chem. Toxicol. 58, 347–354. doi:10.1016/j.fct.2013.05.006

Moon, S.-S., 2014. Low skeletal muscle mass is associated with insulin resistance, diabetes, and metabolic syndrome in the Korean population: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES) 2009-2010. Endocr. J. 61, 61–70.

Mooradian, A.D., Chehade, J., Hurd, R., Haas, M.J., 2000. Monosaccharide-enriched diets cause hyperleptinemia without hypophagia. Nutrition 16, 439–441. doi:10.1016/S0899-9007(00)00229-X

Moran, T.H., 2009. Fructose and Satiety. J. Nutr. 139, 1253S–1256S. doi:10.3945/jn.108.097956

Moreau, K., Walrand, S., Boirie, Y., 2013. Protein Redistribution From Skeletal Muscle to Splanchnic Tissue on Fasting and Refeeding in Young and Older Healthy Individuals. J. Am. Med. Dir. Assoc. 14, 696–704. doi:10.1016/j.jamda.2013.06.005

Morino, K., Petersen, K.F., Shulman, G.I., 2006. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Humans and Their Potential Links With Mitochondrial Dysfunction. Diabetes 55, S9–S15. doi:10.2337/diabetes.

Morley, J.E., Argiles, J.M., Evans, W.J., Bhasin, S., Cella, D., Deutz, N.E.P., Doehner, W., Fearon, K.C.H., Ferrucci, L., Hellerstein, M.K., Kalantar-Zadeh, K., Lochs, H., MacDonald, N., Mulligan, K., Muscaritoli, M., Ponikowski, P., Posthauer, M.E., Fanelli, F.R., Schambelan, M., Schols, A.M.W.J., Schuster, M.W., Anker,

S.D., 2010. Nutritional Recommendations for the Management of Sarcopenia. J. Am. Med. Dir. Assoc. 11, 391–396. doi:10.1016/j.jamda.2010.04.014

Mosoni, L., Houlier, M.L., Mirand, P.P., Bayle, G., Grizard, J., 1993a. Effect of amino acids alone or with insulin on muscle and liver protein synthesis in adult and old rats. Am. J. Physiol. 264, E614–620.

Mosoni, L., Patureau Mirand, P., Houlier, M.L., Arnal, M., 1993b. Age-related changes in protein synthesis measured in vivo in rat liver and gastrocnemius muscle. Mech. Ageing Dev. 68, 209–220.

Mosoni, L., Valluy, M.C., Serrurier, B., Prugnaud, J., Obled, C., Guezennec, C.Y., Mirand, P.P., 1995. Altered response of protein synthesis to nutritional state and endurance training in old rats. Am. J. Physiol. 268, E328–335.

Mott, J.W., Wang, J., Thornton, J.C., Allison, D.B., Heymsfield, S.B., Pierson, R.N., 1999. Relation between body fat and age in 4 ethnic groups. Am. J. Clin. Nutr. 69, 1007–1013.

Muir, S.W., Montero-Odasso, M., 2011. Effect of Vitamin D Supplementation on Muscle Strength, Gait and Balance in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. J. Am. Geriatr. Soc. 59, 2291–2300. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03733.x

Murtagh-Mark, C.M., Reiser, K.M., Harris, R., McDonald, R.B., 1995. Source of Dietary Carbohydrate Affects Life Span of Fischer 344 Rats Independent of Caloric Restriction. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 50A, B148–B154. doi:10.1093/gerona/50A.3.B148

Murthy, S., Born, E., Mathur, S.N., Field, F.J., 2002. LXR/RXR activation enhances basolateral efflux of cholesterol in CaCo-2 cells. J. Lipid Res. 43, 1054–1064. doi:10.1194/jlr.M100358-JLR200

Muzembo, B.A., Nagano, Y., Eitoku, M., Ngatu, N.R., Matsui, T., Bhatti, S.A., Hirota, R., Ishida, K., Suganuma, N., 2014. A cross-sectional assessment of oxidative DNA damage and muscle strength among elderly people living in the community. Environ. Health Prev. Med. 19, 21–29. doi:10.1007/s12199-013-0350-x

Nagai, Y., Nishio, Y., Nakamura, T., Maegawa, H., Kikkawa, R., Kashiwagi, A., 2002. Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPARα. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 282, E1180–E1190. doi:10.1152/ajpendo.00471.2001

Nagai, Y., Yonemitsu, S., Erion, D.M., Iwasaki, T., Stark, R., Weismann, D., Dong, J., Zhang, D., Jurczak, M.J., Löffler, M.G., Cresswell, J., Yu, X.X., Murray, S.F., Bhanot, S., Monia, B.P., Bogan, J.S., Samuel, V., Shulman, G.I., 2009. The Role of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1 beta (PGC-1β) in the Pathogenesis of Fructose-Induced Insulin Resistance. Cell Metab. 9, 252–264. doi:10.1016/j.cmet.2009.01.011

Nagasawa, T., Tabata, N., Ito, Y., Nishizawa, N., 2002. Suppression of early and advanced glycation by dietary water-soluble rutin derivative in diabetic rats. Int. Congr. Ser., The Maillard reaction in food chemistry and medical science: Update for the post-genomic era. Invited papers from the 7th International Symposium on the Maillard reaction, held in Kunamoto, Japan, between 29

October 2001 and 1 November 2001 1245, 403–405. doi:10.1016/S0531-5131(02)00949-4

Nagpal, J., Pande, J.N., Bhartia, A., 2009. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D3 supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men. Diabet. Med. 26, 19–27. doi:10.1111/j.1464-5491.2008.02636.x

Nakagawa, T., Hu, H., Zharikov, S., Tuttle, K.R., Short, R.A., Glushakova, O., Ouyang, X., Feig, D.I., Block, E.R., Herrera-Acosta, J., Patel, J.M., Johnson, R.J., 2006. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 290, F625–631. doi:10.1152/ajprenal.00140.2005

Narici, M.V., Maffulli, N., 2010. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. Br. Med. Bull. 95, 139–159. doi:10.1093/bmb/ldq008

Navarro-Lérida, I., Portolés, M.T., Barrientos, A.Á., Gavilanes, F., Boscá, L., Rodríguez-Crespo, I., 2004. Induction of nitric oxide synthase-2 proceeds with the concomitant downregulation of the endogenous caveolin levels. J. Cell Sci. 117, 1687–1697. doi:10.1242/jcs.01002

Newman, E., Heslin, M.J., Wolf, R.F., Pisters, P.W.T., Brennan, M.F., 1994. The effect of systemic hyperinsulinemia with concomitant amino acid infusion on skeletal muscle protein turnover in the human forearm. Metabolism 43, 70–78. doi:10.1016/0026-0495(94)90159-7

Ng, L.-T., Ko, H.-J., 2012. Comparative effects of tocotrienol-rich fraction, α-tocopherol and α-tocopheryl acetate on inflammatory mediators and nuclear factor kappa B expression in mouse peritoneal macrophages. Food Chem. 134, 920–925. doi:10.1016/j.foodchem.2012.02.206

Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Bloc'h, J.L., Siliart, B., Dumon, H., 2008. Liver lipid metabolism. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 92, 272–283. doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00752.x

Nilwik, R., Snijders, T., Leenders, M., Groen, B.B.L., van Kranenburg, J., Verdijk, L.B., van Loon, L.J.C., 2013. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. Exp. Gerontol. 48, 492–498. doi:10.1016/j.exger.2013.02.012

Nishida, Y., Ito, S., Ohtsuki, S., Yamamoto, N., Takahashi, T., Iwata, N., Jishage, K., Yamada, H., Sasaguri, H., Yokota, S., Piao, W., Tomimitsu, H., Saido, T.C., Yanagisawa, K., Terasaki, T., Mizusawa, H., Yokota, T., 2009. Depletion of Vitamin E Increases Amyloid β Accumulation by Decreasing Its Clearances from Brain and Blood in a Mouse Model of Alzheimer Disease. J. Biol. Chem. 284, 33400–33408. doi:10.1074/jbc.M109.054056

Nishimura, H., Kuzuya, H., Okamoto, M., Yoshimasa, Y., Yamada, K., Ida, T., Kakehi, T., Imura, H., 1988. Change of insulin action with aging in conscious rats determined by euglycemic clamp. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 254, E92–E98.

Niture, N.T., Ansari, A.A., Naik, S.R., 2014. Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers. Indian J. Exp. Biol. 52, 720–727.

Noble, W., Planel, E., Zehr, C., Olm, V., Meyerson, J., Suleman, F., Gaynor, K., Wang, L., LaFrancois, J., Feinstein, B., Burns, M., Krishnamurthy, P., Wen, Y., Bhat,

R., Lewis, J., Dickson, D., Duff, K., 2005. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 6990–6995. doi:10.1073/pnas.0500466102

O'Callaghan, B.L., Koo, S.-H., Wu, Y., Freake, H.C., Towle, H.C., 2001. Glucose Regulation of the Acetyl-CoA Carboxylase Promoter PI in Rat Hepatocytes. J. Biol. Chem. 276, 16033–16039. doi:10.1074/jbc.M101557200

O'Neill, E.D., Wilding, J.P.H., Kahn, C.R., Van Remmen, H., McArdle, A., Jackson, M.J., Close, G.L., 2010. Absence of insulin signalling in skeletal muscle is associated with reduced muscle mass and function: evidence for decreased protein synthesis and not increased degradation. Age Dordr. Neth. 32, 209–222. doi:10.1007/s11357-009-9125-0

Odetti, P., Rossi, S., Monacelli, F., Poggi, A., Cirnigliaro, M., Federici, M., Federici, A., 2005. Advanced Glycation End Products and Bone Loss during Aging. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1043, 710–717. doi:10.1196/annals.1333.082

Oliveira, L.S.C., Santos, D.A., Barbosa-da-Silva, S., Mandarim-de-Lacerda, C.A., Aguila, M.B., 2014. The inflammatory profile and liver damage of a sucrose-rich diet in mice. J. Nutr. Biochem. 25, 193–200. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.10.006

Olthof, M.R., Hollman, P.C.H., Buijsman, M.N.C.P., Amelsvoort, J.M.M. van, Katan, M.B., 2003. Chlorogenic Acid, Quercetin-3-Rutinoside and Black Tea Phenols Are Extensively Metabolized in Humans. J. Nutr. 133, 1806–1814.

Omata, Y., Salvador, G.A., Supasai, S., Keenan, A.H., Oteiza, P.I., 2013. Decreased Zinc Availability Affects Glutathione Metabolism in Neuronal Cells and in the Developing Brain. Toxicol. Sci. 133, 90–100. doi:10.1093/toxsci/kft022

OMS | Vieillissement et qualité de la vie [WWW Document], 2014. . WHO. URL http://www.who.int/ageing/fr/ (accessed 5.28.15).

Oteiza, P.I., 2012. Zinc and the modulation of redox homeostasis. Free Radic. Biol. Med. 53, 1748–1759. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.568

Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Navarrete Santos, A., Grune, T., Simm, A., 2014. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. Redox Biol. 2, 411–429. doi:10.1016/j.redox.2013.12.016

Oudot, A., Behr-Roussel, D., Compagnie, S., Caisey, S., Le Coz, O., Gorny, D., Alexandre, L., Giuliano, F., 2009. Endothelial dysfunction in insulin-resistant rats is associated with oxidative stress and COX pathway dysregulation. Physiol. Res. Acad. Sci. Bohemoslov. 58, 499–509.

Ouyang, X., Cirillo, P., Sautin, Y., McCall, S., Bruchette, J.L., Diehl, A.M., Johnson, R.J., Abdelmalek, M.F., 2008. Fructose Consumption as a Risk Factor for Non-alcoholic Fatty Liver Disease. J. Hepatol. 48, 993–999. doi:10.1016/j.jhep.2008.02.011

Paddon-Jones, D., Sheffield-Moore, M., Zhang, X.-J., Volpi, E., Wolf, S.E., Aarsland, A., Ferrando, A.A., Wolfe, R.R., 2004. Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 286, E321–328. doi:10.1152/ajpendo.00368.2003

Padmaraju, V., Bhaskar, J.J., Prasada Rao, U.J.S., Salimath, P.V., Rao, K.S., 2011. Role of advanced glycation on aggregation and DNA binding properties of α-

synuclein. J. Alzheimers Dis. JAD 24 Suppl 2, 211–221. doi:10.3233/JAD-2011-101965

Page KA, Chan O, Arora J, et al, 2013. EFfects of fructose vs glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways. JAMA 309, 63–70. doi:10.1001/jama.2012.116975

Pagliassotti, M.J., Prach, P.A., 1995. Quantity of sucrose alters the tissue pattern and time course of insulin resistance in young rats. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 269, R641–R646.

Pagliassotti, M.J., Prach, P.A., Koppenhafer, T.A., Pan, D.A., 1996. Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 271, R1319–R1326.

Pagliassotti, M.J., Shahrokhi, K.A., Moscarello, M., 1994. Involvement of liver and skeletal muscle in sucrose-induced insulin resistance: dose-response studies. Am. J. Physiol. 266, R1637–1644.

Pain, V.M., Garlick, P.J., 1974. Effect of Streptozotocin Diabetes and Insulin Treatment on the Rate of Protein Synthesis in Tissues of the Rat in Vivo. J. Biol. Chem. 249, 4510–4514.

Pamies-Andreu, E., Fiksen-Olsen, M., Rizza, R.A., Romero, J.C., 1995. High-fructose feeding elicits insulin resistance without hypertension in normal mongrel dogs. Am. J. Hypertens. 8, 732–738. doi:10.1016/0895-7061(95)00118-9

Pan, D.A., Lillioja, S., Kriketos, A.D., Milner, M.R., Baur, L.A., Bogardus, C., Jenkins, A.B., Storlien, L.H., 1997. Skeletal Muscle Triglyceride Levels Are Inversely Related to Insulin Action. Diabetes 46, 983–988. doi:10.2337/diab.46.6.983

Panchal, S.K., Poudyal, H., Arumugam, T.V., Brown, L., 2011. Rutin Attenuates Metabolic Changes, Nonalcoholic Steatohepatitis, and Cardiovascular Remodeling in High-Carbohydrate, High-Fat Diet-Fed Rats. J. Nutr. 141, 1062–1069. doi:10.3945/jn.111.137877

Panchal, S.K., Poudyal, H., Brown, L., 2012. Quercetin Ameliorates Cardiovascular, Hepatic, and Metabolic Changes in Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. J. Nutr. 142, 1026–1032. doi:10.3945/jn.111.157263

Pansarasa, O., Bertorelli, L., Vecchiet, J., Felzani, G., Marzatico, F., 1999. Age-dependent changes of antioxidant activities and markers of free radical damage in human skeletal muscle. Free Radic. Biol. Med. 27, 617–622. doi:10.1016/S0891-5849(99)00108-2

Paolisso, G., D'Amore, A., Giugliano, D., Ceriello, A., Varricchio, M., D'Onofrio, F., 1993. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. Am. J. Clin. Nutr. 57, 650–656.

Park, D.C., Reuter-Lorenz, P., 2009. The Adaptive Brain: Aging and Neurocognitive Scaffolding. Annu. Rev. Psychol. 60, 173–196. doi:10.1146/annurev.psych.59.103006.093656

Park, K., Rimm, E.B., Siscovick, D.S., Spiegelman, D., Manson, J.E., Morris, J.S., Hu, F.B., Mozaffarian, D., 2012. Toenail Selenium and Incidence of Type 2 Diabetes in U.S. Men and Women. Diabetes Care 35, 1544–1551. doi:10.2337/dc11-2136

Park, O.J., Cesar, D., Faix, D., Wu, K., Shackleton, C.H., Hellerstein, M.K., 1992. Mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridaemia in the rat. Activation

of hepatic pyruvate dehydrogenase through inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase. Biochem. J. 282, 753–757.

Park, S.K., Meyer, T.W., 1992. The effects of fructose feeding on glomerular structure in the rat. J. Am. Soc. Nephrol. 3, 1330–1332.

Park, Y.-M.M., Sui, X., Liu, J., Zhou, H., Kokkinos, P.F., Lavie, C.J., Hardin, J.W., Blair, S.N., 2015. The Effect of Cardiorespiratory Fitness on Age-Related Lipids and Lipoproteins. J. Am. Coll. Cardiol. 65, 2091–2100. doi:10.1016/j.jacc.2015.03.517

Partida-Hernández, G., Arreola, F., Fenton, B., Cabeza, M., Román-Ramos, R., Revilla-Monsalve, M.C., 2006. Effect of zinc replacement on lipids and lipoproteins in type 2-diabetic patients. Biomed. Pharmacother. 60, 161–168. doi:10.1016/j.biopha.2006.02.004

Pashikanti, S., de Alba, D.R., Boissonneault, G.A., Cervantes-Laurean, D., 2010. Rutin metabolites: Novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products. Free Radic. Biol. Med. 48, 656–663. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.019

Pasiakos, S.M., Carbone, J.W., 2014. Assessment of skeletal muscle proteolysis and the regulatory response to nutrition and exercise. IUBMB Life 66, 478–484. doi:10.1002/iub.1291

Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., Piemonte, F., 2003. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. Clin. Chim. Acta 333, 19–39. doi:10.1016/S0009-8981(03)00200-6

Patel, H.P., Syddall, H.E., Jameson, K., Robinson, S., Denison, H., Roberts, H.C., Edwards, M., Dennison, E., Cooper, C., Aihie Sayer, A., 2013. Prevalence of sarcopenia in community-dwelling older people in the UK using the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition: findings from the Hertfordshire Cohort Study (HCS). Age Ageing 42, 378–384. doi:10.1093/ageing/afs197

Payne, B.A.I., Chinnery, P.F., 2015. Mitochondrial dysfunction in aging: Much progress but many unresolved questions. Biochim. Biophys. Acta. doi:10.1016/j.bbabio.2015.05.022

Paz, K., Hemi, R., LeRoith, D., Karasik, A., Elhanany, E., Kanety, H., Zick, Y., 1997. A Molecular Basis for Insulin Resistance ELEVATED SERINE/THREONINE PHOSPHORYLATION OF IRS-1 AND IRS-2 INHIBITS THEIR BINDING TO THE JUXTAMEMBRANE REGION OF THE INSULIN RECEPTOR AND IMPAIRS THEIR ABILITY TO UNDERGO INSULIN-INDUCED TYROSINE PHOSPHORYLATION. J. Biol. Chem. 272, 29911–29918. doi:10.1074/jbc.272.47.29911

Pennings, B., Boirie, Y., Senden, J.M., Gijsen, A.P., Kuipers, H., van Loon, L.J., 2011. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men. Am. J. Clin. Nutr. 93, 997–1005. doi:10.3945/ajcn.110.008102

Pérez-Jiménez, J., Fezeu, L., Touvier, M., Arnault, N., Manach, C., Hercberg, S., Galan, P., Scalbert, A., 2011. Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. Am. J. Clin. Nutr. 93, 1220–1228. doi:10.3945/ajcn.110.007096

Perez-Vizcaino, F., Duarte, J., Jimenez, R., Santos-Buelga, C., Osuna, A., 2009. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. Pharmacol. Rep. PR 61, 67–75.

Perlstein, T.S., Gumieniak, O., Williams, G.H., Sparrow, D., Vokonas, P.S., Gaziano, M., Weiss, S.T., Litonjua, A.A., 2006. Uric Acid and the Development of Hypertension The Normative Aging Study. Hypertension 48, 1031–1036. doi:10.1161/01.HYP.0000248752.08807.4c

Petersen, A.M.W., Pedersen, B.K., 2005. The anti-inflammatory effect of exercise. J. Appl. Physiol. 98, 1154–1162. doi:10.1152/japplphysiol.00164.2004

Peterson, M.D., Rhea, M.R., Sen, A., Gordon, P.M., 2010. Resistance Exercise for Muscular Strength in Older Adults: A Meta-Analysis. Ageing Res. Rev. 9, 226–237. doi:10.1016/j.arr.2010.03.004

Peterson, M.D., Sen, A., Gordon, P.M., 2011. Influence of Resistance Exercise on Lean Body Mass in Aging Adults: A Meta-Analysis. Med. Sci. Sports Exerc. 43, 249–258. doi:10.1249/MSS.0b013e3181eb6265

Phillips, S.M., Tipton, K.D., Aarsland, A., Wolf, S.E., Wolfe, R.R., 1997. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. Am. J. Physiol. 273, E99–107.

Phillips, T., Leeuwenburgh, C., 2005. Muscle fiber-specific apoptosis and TNF-α signaling in sarcopenia are attenuated by life-long calorie restriction. FASEB J. doi:10.1096/fj.04-2870fje

Phuwamongkolwiwat, P., Suzuki, T., Hira, T., Hara, H., 2014. Fructooligosaccharide augments benefits of quercetin-3-O-β-glucoside on insulin sensitivity and plasma total cholesterol with promotion of flavonoid absorption in sucrose-fed rats. Eur. J. Nutr. 53, 457–468. doi:10.1007/s00394-013-0546-2

Pietta, P., Simonetti, P., Gardana, C., Mauri, P., 2000. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of Ginkgo biloba flavonol and Camellia sinensis catechin metabolites. J. Pharm. Biomed. Anal. 23, 223–226. doi:10.1016/S0731-7085(00)00272-7

Pittas, A.G., Dawson-Hughes, B., Li, T., Dam, R.M.V., Willett, W.C., Manson, J.E., Hu, F.B., 2006. Vitamin D and Calcium Intake in Relation to Type 2 Diabetes in Women. Diabetes Care 29, 650–656. doi:10.2337/diacare.29.03.06.dc05-1961

Prakash, P., Singh, V., Jain, M., Rana, M., Khanna, V., Barthwal, M.K., Dikshit, M., 2014. Silymarin ameliorates fructose induced insulin resistance syndrome by reducing de novo hepatic lipogenesis in the rat. Eur. J. Pharmacol. 727, 15–28. doi:10.1016/j.ejphar.2014.01.038

Prince, P.S.M., Kamalakkannan, N., 2006. Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. J. Biochem. Mol. Toxicol. 20, 96–102. doi:10.1002/jbt.20117

Qi, M., Zhou, H., Fan, S., Li, Z., Yao, G., Tashiro, S.-I., Onodera, S., Xia, M., Ikejima, T., 2013. mTOR inactivation by ROS-JNK-p53 pathway plays an essential role in psedolaric acid B induced autophagy-dependent senescence in murine fibrosarcoma L929 cells. Eur. J. Pharmacol. 715, 76–88. doi:10.1016/j.ejphar.2013.05.051

Rand, W.M., Pellett, P.L., Young, V.R., 2003. Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults. Am. J. Clin. Nutr. 77, 109–127.

Rasmussen, B.B., Fujita, S., Wolfe, R.R., Mittendorfer, B., Roy, M., Rowe, V.L., Volpi, E., 2006. Insulin resistance of muscle protein metabolism in aging. FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 20, 768–769. doi:10.1096/fj.05-4607fje

Rasmussen, U.F., Krustrup, P., Kjaer, M., Rasmussen, H.N., 2003. Human skeletal muscle mitochondrial metabolism in youth and senescence: no signs of functional changes in ATP formation and mitochondrial oxidative capacity. Pflüg. Arch. 446, 270–278. doi:10.1007/s00424-003-1022-2

Rayman, M.P., 2012. Selenium and human health. Lancet Lond. Engl. 379, 1256–1268. doi:10.1016/S0140-6736(11)61452-9

Rayman, M.P., Stranges, S., Griffin, B.A., Pastor-Barriuso, R., Guallar, E., 2011. Effect of Supplementation With High-Selenium Yeast on Plasma LipidsA Randomized Trial. Ann. Intern. Med. 154, 656–665. doi:10.7326/0003-4819-154-10-201105170-00005

Repa, J.J., Liang, G., Ou, J., Bashmakov, Y., Lobaccaro, J.-M.A., Shimomura, I., Shan, B., Brown, M.S., Goldstein, J.L., Mangelsdorf, D.J., 2000. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRα and LXRβ. Genes Dev. 14, 2819–2830. doi:10.1101/gad.844900

Repnik, U., Stoka, V., Turk, V., Turk, B., 2012. Lysosomes and lysosomal cathepsins in cell death. Biochim. Biophys. Acta BBA - Proteins Proteomics, Proteolysis 50 years after the discovery of lysosome 1824, 22–33. doi:10.1016/j.bbapap.2011.08.016

Resnick, S.M., Pham, D.L., Kraut, M.A., Zonderman, A.B., Davatzikos, C., 2003. Longitudinal Magnetic Resonance Imaging Studies of Older Adults: A Shrinking Brain. J. Neurosci. 23, 3295–3301.

Riby, J.E., Fujisawa, T., Kretchmer, N., 1993. Fructose absorption. Am. J. Clin. Nutr. 58, 748S–753S.

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. doi:10.1113/jphysiol.2006.110742

Rieu, I., Magne, H., Savary-Auzeloux, I., Averous, J., Bos, C., Peyron, M.A., Combaret, L., Dardevet, D., 2009. Reduction of low grade inflammation restores blunting of postprandial muscle anabolism and limits sarcopenia in old rats. J. Physiol. 587, 5483–5492. doi:10.1113/jphysiol.2009.178319

Rieu, I., Sornet, C., Bayle, G., Prugnaud, J., Pouyet, C., Balage, M., Papet, I., Grizard, J., Dardevet, D., 2003. Leucine-Supplemented Meal Feeding for Ten Days Beneficially Affects Postprandial Muscle Protein Synthesis in Old Rats. J. Nutr. 133, 1198–1205.

Rivera, L., Morón, R., Sánchez, M., Zarzuelo, A., Galisteo, M., 2008. Quercetin Ameliorates Metabolic Syndrome and Improves the Inflammatory Status in Obese Zucker Rats. Obesity 16, 2081–2087. doi:10.1038/oby.2008.315

Rizvi, S., Raza, S.T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S., Mahdi, F., 2014. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases. Sultan Qaboos Univ. Med. J. 14, e157–e165.

Robertson, R.P., Harmon, J., Tran, P.O.T., Poitout, V., 2004. β-Cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity, and Chronic Oxidative Stress in Type 2. Diabetes 53, S119–S124. doi:10.2337/diabetes.53.2007.S119

Rogalski, E., Stebbins, G.T., Barnes, C.A., Murphy, C.M., Stoub, T.R., George, S., Ferrari, C., Shah, R.C., deToledo-Morrell, L., 2012. Age-related changes in parahippocampal white matter integrity: A diffusion tensor imaging study. Neuropsychologia 50, 1759–1765. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2012.03.033

Roglans, N., Sanguino, E., Peris, C., Alegret, M., Vázquez, M., Adzet, T., Díaz, C., Hernández, G., Laguna, J.C., Sánchez, R.M., 2002. Atorvastatin Treatment Induced Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Expression and Decreased Plasma Nonesterified Fatty Acids and Liver Triglyceride in Fructose-Fed Rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 302, 232–239. doi:10.1124/jpet.302.1.232

Roglans, N., Vilà, L., Farré, M., Alegret, M., Sánchez, R.M., Vázquez-Carrera, M., Laguna, J.C., 2007. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARα activity in fructose-fed rats. Hepatology 45, 778–788. doi:10.1002/hep.21499

Rommel, C., Bodine, S.C., Clarke, B.A., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, T.N., Yancopoulos, G.D., Glass, D.J., 2001. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. Nat. Cell Biol. 3, 1009–1013. doi:10.1038/ncb1101-1009

Rooyackers, O.E., Adey, D.B., Ades, P.A., Nair, K.S., 1996. Effect of age on in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. Proc. Natl. Acad. Sci. 93, 15364–15369.

Rosenberg, I.H., 1989. Summary comments. Am. J. Clin. Nutr. 50, 1231–1233.

Ross, A.P., Bartness, T.J., Mielke, J.G., Parent, M.B., 2009. A High Fructose Diet Impairs Spatial Memory in Male Rats. Neurobiol. Learn. Mem. 92, 410–416. doi:10.1016/j.nlm.2009.05.007

Roth, C.L., Elfers, C.T., Figlewicz, D.P., Melhorn, S.J., Morton, G.J., Hoofnagle, A., Yeh, M.M., Nelson, J.E., Kowdley, K.V., 2012. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates nonalcoholic fatty liver disease and increases hepatic resistin and toll-like receptor activation. Hepatology 55, 1103–1111. doi:10.1002/hep.24737

Roubenoff, R., Harris, T.B., Abad, L.W., Wilson, P.W.F., Dallal, G.E., Dinarello, C.A., 1998. Monocyte Cytokine Production in an Elderly Population: Effect of Age and Inflammation. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 53A, M20–M26. doi:10.1093/gerona/53A.1.M20

Rowe, J.W., Minaker, K.L., Pallotta, J.A., Flier, J.S., 1983. Characterization of the insulin resistance of aging. J. Clin. Invest. 71, 1581–1587.

Rudolf, R., Majid Khan, M., Labeit, S., Deschenes, M.R., 2014. Degeneration of Neuromuscular Junction in Age and Dystrophy. Front. Neurosci. 6. doi:10.3389/fnagi.2014.00099

Rufo, C., Teran-Garcia, M., Nakamura, M.T., Koo, S.-H., Towle, H.C., Clarke, S.D., 2001. Involvement of a Unique Carbohydrate-responsive Factor in the Glucose Regulation of Rat Liver Fatty-acid Synthase Gene Transcription. J. Biol. Chem. 276, 21969–21975. doi:10.1074/jbc.M100461200

Ruiz-Ramírez, A., Chávez-Salgado, M., Peñeda-Flores, J.A., Zapata, E., Masso, F., El-Hafidi, M., 2011. High-sucrose diet increases ROS generation, FFA accumulation, UCP2 level, and proton leak in liver mitochondria. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 301, E1198–E1207. doi:10.1152/ajpendo.00631.2010

Rutten, E.P.A., Engelen, M.P.K.J., Castro, C.L.N., Wouters, E.F.M., Schols, A.M.W.J., Deutz, N.E.P., 2005. Decreased Whole-Body and Splanchnic Glutamate Metabolism in Healthy Elderly Men and Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease in the Postabsorptive State and in Response to Feeding. J. Nutr. 135, 2166–2170.

Ryu, M., Jo, J., Lee, Y., Chung, Y.-S., Kim, K.-M., Baek, W.-C., 2013. Association of physical activity with sarcopenia and sarcopenic obesity in community-dwelling older adults: the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. Age Ageing 42, 734–740. doi:10.1093/ageing/aft063

Sabatino, F., Masoro, E.J., McMahan, C.A., Kuhn, R.W., 1991. Assessment of the Role of the Glucocorticoid System in Aging Processes and in the Action of Food Restriction. J. Gerontol. 46, B171–B179. doi:10.1093/geronj/46.5.B171

Sabogal-Guáqueta, A.M., Muñoz-Manco, J.I., Ramírez-Pineda, J.R., Lamprea-Rodriguez, M., Osorio, E., Cardona-Gómez, G.P., 2015. The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. Neuropharmacology 93, 134–145. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.01.027

Saharia, G.K., Goswami, R.K., 2013. Evaluation of Serum Zinc Status and Glycated Hemoglobin of Type 2 Diabetes Mellitus Patients in a Tertiary Care Hospital of Assam. J. Lab. Physicians 5, 30–33. doi:10.4103/0974-2727.115923

Sallis, J.., 2000. Age-related decline in physical activity: a synthesis of human and animal studies. Med. Sci. Sports Exerc. 32, 1598–1600.

Sato, K., Gosho, M., Yamamoto, T., Kobayashi, Y., Ishii, N., Ohashi, T., Nakade, Y., Ito, K., Fukuzawa, Y., Yoneda, M., 2015. Vitamin E has a beneficial effect on nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. Nutrition 31, 923–930. doi:10.1016/j.nut.2014.11.018

Sato, Y., Ito, T., Udaka, N., Kanisawa, M., Noguchi, Y., Cushman, S.W., Satoh, S., 1996. Immunohistochemical localization of facilitated-diffusion glucose transporters in rat pancreatic islets. Tissue Cell 28, 637–643. doi:10.1016/S0040-8166(96)80067-X

Savarino, L., Granchi, D., Ciapetti, G., Cenni, E., Ravaglia, G., Forti, P., Maioli, F., Mattioli, R., 2001. Serum concentrations of zinc and selenium in elderly people: results in healthy nonagenarians/centenarians. Exp. Gerontol. 36, 327–339. doi:10.1016/S0531-5565(00)00218-7

Savary, I., Debras, E., Dardevet, D., Sornet, C., Capitan, P., Prugnaud, J., Mirand, P.P., Grizard, J., 1998. Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart

protein synthesis in adult and old rats. Br. J. Nutr. 79, 297–304. doi:10.1079/BJN19980047

Schaap, L.A., Pluijm, S.M.F., Deeg, D.J.H., Harris, T.B., Kritchevsky, S.B., Newman, A.B., Colbert, L.H., Pahor, M., Rubin, S.M., Tylavsky, F.A., Visser, M., 2009. Higher Inflammatory Marker Levels in Older Persons: Associations With 5-Year Change in Muscle Mass and Muscle Strength. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 64A, 1183–1189. doi:10.1093/gerona/glp097

Schaap, L.A., Pluijm, S.M.F., Deeg, D.J.H., Visser, M., 2006. Inflammatory Markers and Loss of Muscle Mass (Sarcopenia) and Strength. Am. J. Med. 119, 526.e9–526.e17. doi:10.1016/j.amjmed.2005.10.049

Schleithoff, S.S., Zittermann, A., Tenderich, G., Berthold, H.K., Stehle, P., Koerfer, R., 2006. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Am. J. Clin. Nutr. 83, 754–759.

Schubert, M., Gautam, D., Surjo, D., Ueki, K., Baudler, S., Schubert, D., Kondo, T., Alber, J., Galldiks, N., Küstermann, E., Arndt, S., Jacobs, A.H., Krone, W., Kahn, C.R., Brüning, J.C., 2004. Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 101, 3100–3105. doi:10.1073/pnas.0308724101

Schultz, A., Neil, D., Aguila, M.B., Mandarim-de-Lacerda, C.A., 2013. Hepatic Adverse Effects of Fructose Consumption Independent of Overweight/Obesity. Int. J. Mol. Sci. 14, 21873–21886. doi:10.3390/ijms141121873

Scragg, R., Sowers, M., Bell, C., 2004. Serum 25-Hydroxyvitamin D, Diabetes, and Ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Diabetes Care 27, 2813–2818. doi:10.2337/diacare.27.12.2813

Sell, D.R., Monnier, V.M., 2012. Molecular basis of arterial stiffening: role of glycation - a mini-review. Gerontology 58, 227–237. doi:10.1159/000334668

Semba, R.D., Bandinelli, S., Sun, K., Guralnik, J.M., Ferrucci, L., 2010a. Relationship of an advanced glycation end product, plasma carboxymethyl-lysine, with slow walking speed in older adults: the InCHIANTI study. Eur. J. Appl. Physiol. 108, 191–195. doi:10.1007/s00421-009-1192-5

Semba, R.D., Ferrucci, L., Sun, K., Walston, J., Varadhan, R., Guralnik, J.M., Fried, L.P., 2007. Oxidative stress and severe walking disability among older women. Am. J. Med. 120, 1084–1089. doi:10.1016/j.amjmed.2007.07.028

Semba, R.D., Nicklett, E.J., Ferrucci, L., 2010b. Does Accumulation of Advanced Glycation End Products Contribute to the Aging Phenotype? J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 65A, 963–975. doi:10.1093/gerona/glq074

Semchyshyn, H.M., Lozinska, L.M., Miedzobrodzki, J., Lushchak, V.I., 2011. Fructose and glucose differentially affect aging and carbonyl/oxidative stress parameters in Saccharomyces cerevisiae cells. Carbohydr. Res. 346, 933–938. doi:10.1016/j.carres.2011.03.005

Seo, E., Kim, S., Lee, S.J., Oh, B.-C., Jun, H.-S., 2015. Ginseng Berry Extract Supplementation Improves Age-Related Decline of Insulin Signaling in Mice. Nutrients 7, 3038–3053. doi:10.3390/nu7043038

Seppälä-Lindroos, A., Vehkavaara, S., Häkkinen, A.-M., Goto, T., Westerbacka, J., Sovijärvi, A., Halavaara, J., Yki-Järvinen, H., 2002. Fat Accumulation in the Liver Is Associated with Defects in Insulin Suppression of Glucose Production and Serum Free Fatty Acids Independent of Obesity in Normal Men. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87, 3023–3028. doi:10.1210/jcem.87.7.8638

Shapiro, A., Mu, W., Roncal, C., Cheng, K.-Y., Johnson, R.J., Scarpace, P.J., 2008. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 295, R1370–R1375. doi:10.1152/ajpregu.00195.2008

She, P., Olson, K.C., Kadota, Y., Inukai, A., Shimomura, Y., Hoppel, C.L., Adams, S.H., Kawamata, Y., Matsumoto, H., Sakai, R., Lang, C.H., Lynch, C.J., 2013. Leucine and Protein Metabolism in Obese Zucker Rats. PLoS ONE 8. doi:10.1371/journal.pone.0059443

Sheetz, K.H., Waits, S.A., Terjimanian, M.N., Sullivan, J., Campbell, D.A., Wang, S.C., Englesbe, M.J., 2013. Cost of Major Surgery in the Sarcopenic Patient. J. Am. Coll. Surg. 217. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2013.04.042

Shertzer, H.G., Woods, S.E., Krishan, M., Genter, M.B., Pearson, K.J., 2011. Dietary Whey Protein Lowers the Risk for Metabolic Disease in Mice Fed a High-Fat Diet12. J. Nutr. 141, 582–587. doi:10.3945/jn.110.133736

Shi, X., Schedl, H., Summers, R., Lambert, G., Chang, R., Xia, T., Gisolfi, C., 1997. Fructose transport mechanisms in humans. Gastroenterology 113, 1171–1179. doi:10.1053/gast.1997.v113.pm9322512

Shi, Y., Liang, X., Zhang, H., Wu, Q., Qu, L., Sun, Q., 2013. Quercetin protects rat dorsal root ganglion neurons against high glucose-induced injury in vitro through Nrf-2/HO-1 activation and NF-κB inhibition. Acta Pharmacol. Sin. 34, 1140–1148. doi:10.1038/aps.2013.59

Shilo, S., Pardo, M., Aharoni-Simon, M., Glibter, S., Tirosh, O., 2008. Selenium supplementation increases liver MnSOD expression: Molecular mechanism for hepato-protection. J. Inorg. Biochem. 102, 110–118. doi:10.1016/j.jinorgbio.2007.07.027

Shimano, H., Yahagi, N., Amemiya-Kudo, M., Hasty, A.H., Osuga, J., Tamura, Y., Shionoiri, F., Iizuka, Y., Ohashi, K., Harada, K., Gotoda, T., Ishibashi, S., Yamada, N., 1999. Sterol Regulatory Element-binding Protein-1 as a Key Transcription Factor for Nutritional Induction of Lipogenic Enzyme Genes. J. Biol. Chem. 274, 35832–35839. doi:10.1074/jbc.274.50.35832

Shimomura, I., Matsuda, M., Hammer, R.E., Bashmakov, Y., Brown, M.S., Goldstein, J.L., 2000. Decreased IRS-2 and Increased SREBP-1c Lead to Mixed Insulin Resistance and Sensitivity in Livers of Lipodystrophic and ob/ob Mice. Mol. Cell 6, 77–86. doi:10.1016/S1097-2765(05)00010-9

Sikder, K., Kesh, S.B., Das, N., Manna, K., Dey, S., 2014. The high antioxidative power of quercetin (aglycone flavonoid) and its glycone (rutin) avert high cholesterol diet induced hepatotoxicity and inflammation in Swiss albino mice. Food Funct. 5, 1294–1303. doi:10.1039/c3fo60526d

Silva, N.L., Oliveira, R.B., Fleck, S.J., Leon, A.C.M.P., Farinatti, P., 2014. Influence of strength training variables on strength gains in adults over 55 years-old: A

meta-analysis of dose–response relationships. J. Sci. Med. Sport 17, 337–344. doi:10.1016/j.jsams.2013.05.009

Singh, T., Newman, A.B., 2011. Inflammatory markers in population studies of aging. Ageing Res. Rev. 10, 319–329. doi:10.1016/j.arr.2010.11.002

Smith, G.I., Atherton, P., Reeds, D.N., Mohammed, B.S., Rankin, D., Rennie, M.J., Mittendorfer, B., 2011. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial123. Am. J. Clin. Nutr. 93, 402–412. doi:10.3945/ajcn.110.005611

Smith, M.A., Reid, M.B., 2006. Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle. Respir. Physiol. Neurobiol., New Directions in Exercise Physiology 151, 229–241. doi:10.1016/j.resp.2005.12.011

Smith, M.A., Taneda, S., Richey, P.L., Miyata, S., Yan, S.D., Stern, D., Sayre, L.M., Monnier, V.M., Perry, G., 1994. Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91, 5710–5714.

Sodhi, R.K., Singh, N., 2014. Retinoids as potential targets for Alzheimer's disease. Pharmacol. Biochem. Behav. 120, 117–123. doi:10.1016/j.pbb.2014.02.016

Sohal, R.S., Arnold, L.A., Sohal, B.H., 1990. Age-related changes in antioxidant enzymes and prooxidant generation in tissues of the rat with special reference to parameters in two insect species. Free Radic. Biol. Med. 9, 495–500. doi:10.1016/0891-5849(90)90127-5

Soleimani, M., 2011. Dietary fructose, salt absorption and hypertension in metabolic syndrome: towards a new paradigm. Acta Physiol. 201, 55–62. doi:10.1111/j.1748-1716.2010.02167.x

Solomon, A.M., Bouloux, P.M.G., 2006. Modifying muscle mass – the endocrine perspective. J. Endocrinol. 191, 349–360. doi:10.1677/joe.1.06837

Soriguer, F., Colomo, N., Valdés, S., Goday, A., Rubio-Martín, E., Esteva, I., Castaño, L., Adana, M.S.R. de, Morcillo, S., Calle, A., García-Fuentes, E., Catalá, M., Gutiérrez-Repiso, C., Delgado, E., Gomis, R., Ortega, E., Rojo-Martínez, G., 2014. Modifications of the homeostasis model assessment of insulin resistance index with age. Acta Diabetol. 51, 917–925. doi:10.1007/s00592-013-0523-5

Spolarics, Z., Meyenhofer, M., 2000. Augmented resistance to oxidative stress in fatty rat livers induced by a short-term sucrose-rich diet. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids 1487, 190–200. doi:10.1016/S1388-1981(00)00093-7

Stanhope, K.L., Schwarz, J.M., Keim, N.L., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Graham, J.L., Hatcher, B., Cox, C.L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J.P., Seibert, A., Krauss, R.M., Chiu, S., Schaefer, E.J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., Beysen, C., Hellerstein, M.K., Berglund, L., Havel, P.J., 2009. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. J. Clin. Invest. 119, 1322–1334. doi:10.1172/JCI37385

Steinberg, H.O., Brechtel, G., Johnson, A., Fineberg, N., Baron, A.D., 1994. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. J. Clin. Invest. 94, 1172–1179.

Stewart, L.K., Flynn, M.G., Campbell, W.W., Craig, B.A., Robinson, J.P., Timmerman, K.L., Mcfarlin, B.K., Coen, P.M., Talbert, E., 2007. The Influence of Exercise Training on Inflammatory Cytokines and C-Reactive Protein: Med. Sci. Sports Exerc. 39, 1714–1719. doi:10.1249/mss.0b013e31811ece1c

Stojkovski, V., Hadzi-Petrushev, N., Ilieski, V., Sopi, R., Gjorgoski, I., Mitrov, D., Jankulovski, N., Mladenov, M., 2013. Age and heat exposure-dependent changes in antioxidant enzymes activities in rat's liver and brain mitochondria: role of alpha-tocopherol. Physiol. Res. Acad. Sci. Bohemoslov. 62, 503–510.

Storlien, L.H., Kraegen, E.W., Jenkins, A.B., Chisholm, D.J., 1988. Effects of sucrose vs starch diets on in vivo insulin action, thermogenesis, and obesity in rats. Am. J. Clin. Nutr. 47, 420–427.

Studenski, S.A., Peters, K.W., Alley, D.E., Cawthon, P.M., McLean, R.R., Harris, T.B., Ferrucci, L., Guralnik, J.M., Fragala, M.S., Kenny, A.M., Kiel, D.P., Kritchevsky, S.B., Shardell, M.D., Dam, T.-T.L., Vassileva, M.T., 2014. The FNIH Sarcopenia Project: Rationale, Study Description, Conference Recommendations, and Final Estimates. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 69, 547–558. doi:10.1093/gerona/glu010

Su, B., Wang, X., Lee, H., Tabaton, M., Perry, G., Smith, M.A., Zhu, X., 2010. Chronic oxidative stress causes increased tau phosphorylation in M17 neuroblastoma cells. Neurosci. Lett. 468, 267–271. doi:10.1016/j.neulet.2009.11.010

Suárez, G., Rajaram, R., Oronsky, A.L., Gawinowicz, M.A., 1989. Nonenzymatic glycation of bovine serum albumin by fructose (fructation). Comparison with the Maillard reaction initiated by glucose. J. Biol. Chem. 264, 3674–3679.

Sun, K., Semba, R.D., Fried, L.P., Schaumberg, D.A., Ferrucci, L., Varadhan, R., 2012. Elevated Serum Carboxymethyl-Lysine, an Advanced Glycation End Product, Predicts Severe Walking Disability in Older Women: The Women's Health and Aging Study I. J. Aging Res. 2012. doi:10.1155/2012/586385

Sun, Z., Lazar, M.A., 2013. Dissociating Fatty Liver and Diabetes. Trends Endocrinol. Metab. TEM 24, 4–12. doi:10.1016/j.tem.2012.09.005

Swarbrick, M.M., Stanhope, K.L., Elliott, S.S., Graham, J.L., Krauss, R.M., Christiansen, M.P., Griffen, S.C., Keim, N.L., Havel, P.J., 2008. Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women. Br. J. Nutr. 100, 947–952. doi:10.1017/S0007114508968252

Szoke, E., Shrayyef, M.Z., Messing, S., Woerle, H.J., Haeften, T.W. van, Meyer, C., Mitrakou, A., Pimenta, W., Gerich, J.E., 2008. Effect of Aging on Glucose Homeostasis Accelerated deterioration of β-cell function in individuals with impaired glucose tolerance. Diabetes Care 31, 539–543. doi:10.2337/dc07-1443

Tabaczar, S., Pieniążek, A., Czepas, J., Piasecka-Zelga, J., Gwoździński, K., Koceva-Chyła, A., 2013. Quercetin attenuates oxidative stress in the blood plasma of rats bearing DMBA-induced mammary cancer and treated with a combination of doxorubicin and docetaxel. Gen. Physiol. Biophys. 32, 535–543. doi:10.4149/gpb_2013048

Tajar, A., Lee, D.M., Pye, S.R., O'Connell, M.D.L., Ravindrarajah, R., Gielen, E., Boonen, S., Vanderschueren, D., Pendleton, N., Finn, J.D., Bartfai, G.,

Casanueva, F.F., Forti, G., Giwercman, A., Han, T.S., Huhtaniemi, I.T., Kula, K., Lean, M.E.J., Punab, M., Wu, F.C.W., O'Neill, T.W., 2013. The association of frailty with serum 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in older European men. Age Ageing 42, 352–359. doi:10.1093/ageing/afs162

Takagawa, Y., Berger, M.E., Hori, M.T., Tuck, M.L., Golub, M.S., 2001. Long-term fructose feeding impairs vascular relaxation in rat mesenteric arteries. Am. J. Hypertens. 14, 811–817. doi:10.1016/S0895-7061(01)01298-5

Takeuchi, M., Takino, J.-I., Sakasai-Sakai, A., Takata, T., Ueda, T., Tsutsumi, M., Hyogo, H., Yamagishi, S.-I., 2014. Involvement of the TAGE-RAGE system in non-alcoholic steatohepatitis: Novel treatment strategies. World J. Hepatol. 6, 880–893. doi:10.4254/wjh.v6.i12.880

Tanimoto, Y., Watanabe, M., Sun, W., Sugiura, Y., Hayashida, I., Kusabiraki, T., Tamaki, J., 2014. Sarcopenia and falls in community-dwelling elderly subjects in Japan: Defining sarcopenia according to criteria of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. Arch. Gerontol. Geriatr. 59, 295–299. doi:10.1016/j.archger.2014.04.016

Tanimoto, Y., Watanabe, M., Sun, W., Tanimoto, K., Shishikura, K., Sugiura, Y., Kusabiraki, T., Kono, K., 2013. Association of sarcopenia with functional decline in community-dwelling elderly subjects in Japan. Geriatr. Gerontol. Int. 13, 958–963. doi:10.1111/ggi.12037

Tappy, L., Lê, K.-A., 2010. Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. Physiol. Rev. 90, 23–46. doi:10.1152/physrev.00019.2009

Taylor, C.G., 2005. Zinc, the Pancreas, and Diabetes: Insights from Rodent Studies and Future Directions. Biometals 18, 305–312. doi:10.1007/s10534-005-3686-x

Teff, K.L., Elliott, S.S., Tschöp, M., Kieffer, T.J., Rader, D., Heiman, M., Townsend, R.R., Keim, N.L., D'Alessio, D., Havel, P.J., 2004. Dietary Fructose Reduces Circulating Insulin and Leptin, Attenuates Postprandial Suppression of Ghrelin, and Increases Triglycerides in Women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 89, 2963–2972. doi:10.1210/jc.2003-031855

Temple, M.D., Perrone, G.G., Dawes, I.W., 2005. Complex cellular responses to reactive oxygen species. Trends Cell Biol. 15, 319–326. doi:10.1016/j.tcb.2005.04.003

Terry, R.D., Katzman, R., 2001. Life span and synapses: will there be a primary senile dementia? Neurobiol. Aging 22, 347–348. doi:10.1016/S0197-4580(00)00250-5

Teunissen, C.E., van Boxtel, M.P.J., Bosma, H., Bosmans, E., Delanghe, J., De Bruijn, C., Wauters, A., Maes, M., Jolles, J., Steinbusch, H.W.M., de Vente, J., 2003. Inflammation markers in relation to cognition in a healthy aging population. J. Neuroimmunol. 134, 142–150. doi:10.1016/S0165-5728(02)00398-3

Thirunavukkarasu, V., Anitha Nandhini, A.T., Anuradha, C.V., 2004. Cardiac lipids and antioxidant status in high fructose rats and the effect of α-lipoic acid. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 14, 351–357. doi:10.1016/S0939-4753(04)80025-5

Thorburn, A.W., Storlien, L.H., Jenkins, A.B., Khouri, S., Kraegen, E.W., 1989. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. Am. J. Clin. Nutr. 49, 1155–1163.

Thuy, S., Ladurner, R., Volynets, V., Wagner, S., Strahl, S., Königsrainer, A., Maier, K.-P., Bischoff, S.C., Bergheim, I., 2008. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in

Humans Is Associated with Increased Plasma Endotoxin and Plasminogen Activator Inhibitor 1 Concentrations and with Fructose Intake. J. Nutr. 138, 1452–1455.

Tilg, H., Moschen, A.R., 2008. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. Trends Endocrinol. Metab. 19, 371–379. doi:10.1016/j.tem.2008.08.005

Timmerman, K.L., Lee, J.L., Dreyer, H.C., Dhanani, S., Glynn, E.L., Fry, C.S., Drummond, M.J., Sheffield-Moore, M., Rasmussen, B.B., Volpi, E., 2010a. Insulin stimulates human skeletal muscle protein synthesis via an indirect mechanism involving endothelial-dependent vasodilation and mammalian target of rapamycin complex 1 signaling. J. Clin. Endocrinol. Metab. 95, 3848–3857. doi:10.1210/jc.2009-2696

Timmerman, K.L., Lee, J.L., Fujita, S., Dhanani, S., Dreyer, H.C., Fry, C.S., Drummond, M.J., Sheffield-Moore, M., Rasmussen, B.B., Volpi, E., 2010b. Pharmacological Vasodilation Improves Insulin-Stimulated Muscle Protein Anabolism but Not Glucose Utilization in Older Adults. Diabetes 59, 2764–2771. doi:10.2337/db10-0415

Tobey, T.A., Mondon, C.E., Zavaroni, I., Reaven, G.M., 1982. Mechanism of insulin resistance in fructose-fed rats. Metabolism 31, 608–612. doi:10.1016/0026-0495(82)90100-7

Toffanello, E.D., Coin, A., Perissinotto, E., Zambon, S., Sarti, S., Veronese, N., De Rui, M., Bolzetta, F., Corti, M.-C., Crepaldi, G., Manzato, E., Sergi, G., 2014. Vitamin D deficiency predicts cognitive decline in older men and women: The Pro.V.A. Study. Neurology 83, 2292–2298. doi:10.1212/WNL.0000000000001080

Topping, D.L., Mayes, P.A., 1971. The concentration of fructose, glucose and lactate in the splanchnic blood vessels of rats absorbing fructose. Nutr. Metab. 13, 331–338.

Tran, L.T., Yuen, V.G., McNeill, J.H., 2009. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. Mol. Cell. Biochem. 332, 145–159. doi:10.1007/s11010-009-0184-4

Trumbo, P.R., Rivers, C.R., 2014. Systematic review of the evidence for an association between sugar-sweetened beverage consumption and risk of obesity. Nutr. Rev. 72, 566–574. doi:10.1111/nure.12128

Truswell, A.S., Seach, J.M., Thorburn, A.W., 1988. Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of glucose. Am. J. Clin. Nutr. 48, 1424–1430.

Tyszka-Czochara, M., Grzywacz, A., Gdula-Argasińska, J., Librowski, T., Wiliński, B., Opoka, W., 2014. The role of zinc in the pathogenesis and treatment of central nervous system (CNS) diseases. Implications of zinc homeostasis for proper CNS function. Acta Pol. Pharm. 71, 369–377.

Vaarhorst, A.A.M., Beekman, M., Suchiman, E.H.D., van Heemst, D., Houwing-Duistermaat, J.J., Westendorp, R.G.J., Slagboom, P.E., Heijmans, B.T., 2011. Lipid metabolism in long-lived families: the Leiden Longevity Study. Age 33, 219–227. doi:10.1007/s11357-010-9172-6

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39, 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001

Van Acker, S.A.B.E., Koymans, L.M.H., Bast, A., 1993. Molecular pharmacology of vitamin E: Structural aspects of antioxidant activity. Free Radic. Biol. Med. 15, 311–328. doi:10.1016/0891-5849(93)90078-9

Vandervoort, A.A., 2002. Aging of the human neuromuscular system. Muscle Nerve 25, 17–25. doi:10.1002/mus.1215

Vasdev, S., Gill, V., Parai, S., Longerich, L., Gadag, V., 2002a. Dietary vitamin E and C supplementation prevents fructose induced hypertension in rats. Mol. Cell. Biochem. 241, 107–114.

Vasdev, S., Gill, V., Parai, S., Longerich, L., Gadag, V., 2002b. Dietary vitamin E supplementation lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Mol. Cell. Biochem. 238, 111–117.

Vasiljević, A., Bursać, B., Djordjevic, A., Milutinović, D.V., Nikolić, M., Matić, G., Veličković, N., 2014. Hepatic inflammation induced by high-fructose diet is associated with altered 11βHSD1 expression in the liver of Wistar rats. Eur. J. Nutr. 53, 1393–1402. doi:10.1007/s00394-013-0641-4

Verschueren, S.M., Bogaerts, A., Delecluse, C., Claessens, A.L., Haentjens, P., Vanderschueren, D., Boonen, S., 2011. The effects of whole-body vibration training and vitamin D supplementation on muscle strength, muscle mass, and bone density in institutionalized elderly women: A 6-month randomized, controlled trial. J. Bone Miner. Res. 26, 42–49. doi:10.1002/jbmr.181

Visser, M., Deeg, D.J.H., Lips, P., 2003. Low Vitamin D and High Parathyroid Hormone Levels as Determinants of Loss of Muscle Strength and Muscle Mass (Sarcopenia): The Longitudinal Aging Study Amsterdam. J. Clin. Endocrinol. Metab. 88, 5766–5772. doi:10.1210/jc.2003-030604

Visser, M., Pahor, M., Taaffe, D.R., Goodpaster, B.H., Simonsick, E.M., Newman, A.B., Nevitt, M., Harris, T.B., 2002. Relationship of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-α With Muscle Mass and Muscle Strength in Elderly Men and Women The Health ABC Study. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 57, M326–M332. doi:10.1093/gerona/57.5.M326

Vitek, M.P., Bhattacharya, K., Glendening, J.M., Stopa, E., Vlassara, H., Bucala, R., Manogue, K., Cerami, A., 1994. Advanced glycation end products contribute to amyloidosis in Alzheimer disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91, 4766–4770.

Volaklis, K.A., Halle, M., Meisinger, C., 2015. Muscular strength as a strong predictor of mortality: A narrative review. Eur. J. Intern. Med. 26, 303–310. doi:10.1016/j.ejim.2015.04.013

Volpi, E., Mittendorfer, B., Rasmussen, B.B., Wolfe, R.R., 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.

Volpi, E., Mittendorfer, B., Wolf, S.E., Wolfe, R.R., 1999. Oral amino acids stimulate muscle protein anabolism in the elderly despite higher first-pass splanchnic extraction. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 277, E513–E520.

Volpi, E., Sheffield-Moore, M., Rasmussen, B.B., Wolfe, R.R., 2001. Basal Muscle Amino Acid Kinetics and Protein Synthesis in Healthy Young and Older Men. JAMA J. Am. Med. Assoc. 286, 1206–1212.

Von Haehling, S., Morley, J.E., Anker, S.D., 2010. An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. J. Cachexia Sarcopenia Muscle 1, 129–133. doi:10.1007/s13539-010-0014-2

Vrána, A., Kazdová, L., 1970. Insulin sensitivity of rat adipose tissue and of diaphragm in vitro: Effect of the type of dietary carbohydrate (starch - sucrose). Life Sci. 9, 257–265. doi:10.1016/0024-3205(70)90314-0

Wang, X., Proud, C.G., 2006. The mTOR Pathway in the Control of Protein Synthesis. Physiology 21, 362–369. doi:10.1152/physiol.00024.2006

Wang, X., Zhang, W., Chen, H., Liao, N., Wang, Z., Zhang, X., Hai, C., 2014. High selenium impairs hepatic insulin sensitivity through opposite regulation of ROS. Toxicol. Lett. 224, 16–23. doi:10.1016/j.toxlet.2013.10.005

Weaver, J.D., Huang, M.-H., Albert, M., Harris, T., Rowe, J.W., Seeman, T.E., 2002. Interleukin-6 and risk of cognitive decline: MacArthur Studies of Successful Aging. Neurology 59, 371–378. doi:10.1212/WNL.59.3.371

Wei, J., Xu, H., Davies, J.L., Hemmings, G.P., 1992. Increase of plasma IL-6 concentration with age in healthy subjects. Life Sci. 51, 1953–1956.

Wei, Y., Pagliassotti, M.J., 2004. Hepatospecific effects of fructose on c-jun NH2-terminal kinase: implications for hepatic insulin resistance. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 287, E926–E933. doi:10.1152/ajpendo.00185.2004

Wei, Y., Wang, D., Pagliassotti, M.J., 2005. Fructose Selectively Modulates c-jun N-Terminal Kinase Activity and Insulin Signaling in Rat Primary Hepatocytes. J. Nutr. 135, 1642–1646.

Welle, S., Thornton, C., Jozefowicz, R., Statt, M., 1993. Myofibrillar protein synthesis in young and old men. Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab. 264, E693–E698.

Welle, S., Thornton, C., Statt, M., McHenry, B., 1994. Postprandial myofibrillar and whole body protein synthesis in young and old human subjects. Am. J. Physiol. 267, E599–604.

Wen, Y., Killalea, S., McGettigan, P., Feely, J., 1996. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins C and E in hypertensive patients. Ir. J. Med. Sci. 165, 210–212. doi:10.1007/BF02940252

White, C., Drummond, S., De Looy, A., 2010. Comparing advice to decrease both dietary fat and sucrose, or dietary fat only, on weight loss, weight maintenance and perceived quality of life. Int. J. Food Sci. Nutr. 61, 282–294. doi:10.3109/09637480903397355

White, J.P., Gao, S., Puppa, M.J., Sato, S., Welle, S.L., Carson, J.A., 2013. Testosterone regulation of Akt/mTORC1/FoxO3a Signaling in Skeletal Muscle. Mol. Cell. Endocrinol. 365, 174–186. doi:10.1016/j.mce.2012.10.019

White, J.S., 2008. Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. Am. J. Clin. Nutr. 88, 1716S–1721S. doi:10.3945/ajcn.2008.25825B

Whitson, H.E., Arnold, A.M., Yee, L.M., Mukamal, K.J., Kizer, J.R., Djousse, L., Ix, J.H., Siscovick, D., Tracy, R.P., Thielke, S.M., Hirsch, C., Newman, A.B., Zieman, S., 2014. Serum Carboxymethyl-Lysine, Disability, and Frailty in

Older Persons: The Cardiovascular Health Study. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 69, 710–716. doi:10.1093/gerona/glt155

WHO | WHO opens public consultation on draft sugars guideline [WWW Document], 2014. . WHO. URL http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2014/consultation-sugar-guideline/en/ (accessed 4.22.15).

Wicherts, I.S., van Schoor, N.M., Boeke, A.J.P., Visser, M., Deeg, D.J.H., Smit, J., Knol, D.L., Lips, P., 2007. Vitamin D Status Predicts Physical Performance and Its Decline in Older Persons. J. Clin. Endocrinol. Metab. 92, 2058–2065. doi:10.1210/jc.2006-1525

Wilkes, E.A., Selby, A.L., Atherton, P.J., Patel, R., Rankin, D., Smith, K., Rennie, M.J., 2009. Blunting of insulin inhibition of proteolysis in legs of older subjects may contribute to age-related sarcopenia. Am. J. Clin. Nutr. 90, 1343–1350. doi:10.3945/ajcn.2009.27543

Wilms, L.C., Hollman, P.C.H., Boots, A.W., Kleinjans, J.C.S., 2005. Protection by quercetin and quercetin-rich fruit juice against induction of oxidative DNA damage and formation of BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen. 582, 155–162. doi:10.1016/j.mrgentox.2005.01.006

Wu, C.-H., Lin, M.-C., Wang, H.-C., Yang, M.-Y., Jou, M.-J., Wang, C.-J., 2011. Rutin Inhibits Oleic Acid Induced Lipid Accumulation via Reducing Lipogenesis and Oxidative Stress in Hepatocarcinoma Cells. J. Food Sci. 76, T65–T72. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.02033.x

Xiong, S., Markesbery, W.R., Shao, C., Lovell, M.A., 2007. Seleno-L-Methionine Protects Against β-Amyloid and Iron/Hydrogen Peroxide-Mediated Neuron Death. Antioxid. Redox Signal. 9, 457–467. doi:10.1089/ars.2006.1363

Xu, B., Chibber, R., Ruggiero, D., Kohner, E., Ritter, J., Ferro, A., 2003. Impairment of vascular endothelial nitric oxide synthase activity by advanced glycation end products. FASEB J. doi:10.1096/fj.02-0490fje

Xu, K.Y., Zweier, J.L., Becker, L.C., 1997. Hydroxyl Radical Inhibits Sarcoplasmic Reticulum Ca2+-ATPase Function by Direct Attack on the ATP Binding Site. Circ. Res. 80, 76–81. doi:10.1161/01.RES.80.1.76

Xu, P., Wang, S., Yu, X., Su, Y., Wang, T., Zhou, W., Zhang, H., Wang, Y., Liu, R., 2014. Rutin improves spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by reducing Aβ oligomer level and attenuating oxidative stress and neuroinflammation. Behav. Brain Res. 264, 173–180. doi:10.1016/j.bbr.2014.02.002

Xu, R., Zhang, S., Tao, A., Chen, G., Zhang, M., 2014. Influence of Vitamin E Supplementation on Glycaemic Control: A Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. PLoS ONE 9. doi:10.1371/journal.pone.0095008

Xue, J.C., Schwarz, E.J., Chawla, A., Lazar, M.A., 1996. Distinct stages in adipogenesis revealed by retinoid inhibition of differentiation after induction of PPARgamma. Mol. Cell. Biol. 16, 1567–1575.

Yaffe, K., Lindquist, K., Penninx, B.W., Simonsick, E.M., Pahor, M., Kritchevsky, S., Launer, L., Kuller, L., Rubin, S., Harris, T., 2003. Inflammatory markers and

cognition in well-functioning African-American and white elders. Neurology 61, 76–80. doi:10.1212/01.WNL.0000073620.42047.D7

Yagi, T., Ueda, H., Amitani, H., Asakawa, A., Miyawaki, S., Inui, A., 2012. The role of ghrelin, salivary secretions, and dental care in eating disorders. Nutrients 4, 967–989. doi:10.3390/nu4080967

Yamamoto, Y., Oue, E., 2006. Antihypertensive Effect of Quercetin in Rats Fed with a High-Fat High-Sucrose Diet. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70, 933–939. doi:10.1271/bbb.70.933

Yamashita, H., Takenoshita, M., Sakurai, M., Bruick, R.K., Henzel, W.J., Shillinglaw, W., Arnot, D., Uyeda, K., 2001. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 9116–9121. doi:10.1073/pnas.161284298

Yang, J.H., Shin, B.Y., Han, J.Y., Kim, M.G., Wi, J.E., Kim, Y.W., Cho, I.J., Kim, S.C., Shin, S.M., Ki, S.H., 2014. Isorhamnetin protects against oxidative stress by activating Nrf2 and inducing the expression of its target genes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 274, 293–301. doi:10.1016/j.taap.2013.10.026

Yang, M.-H., Wang, C.-H., Chen, H.-L., 2001. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet. J. Nutr. Biochem. 12, 14–20. doi:10.1016/S0955-2863(00)00140-6

Ye, X., Gao, X., Scott, T., Tucker, K.L., 2011. Habitual sugar intake and cognitive function among middle-aged and older Puerto Ricans without diabetes. Br. J. Nutr. 106, 1423–1432. doi:10.1017/S0007114511001760

Yousefi Rad, E., Djalali, M., Koohdani, F., Saboor-Yaraghi, A.A., Eshraghian, M.R., Javanbakht, M.H., Saboori, S., Zarei, M., Hosseinzadeh-Attar, M.J., 2014. The Effects of Vitamin D Supplementation on Glucose Control and Insulin Resistance in Patients with Diabetes Type 2: A Randomized Clinical Trial Study. Iran. J. Public Health 43, 1651–1656.

Yu, M., Wang, H., Xu, Y., Yu, D., Li, D., Liu, X., Du, W., 2015. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) promotes myoblast proliferation and skeletal muscle growth of embryonic chickens via the PI3K/Akt signalling pathway. Cell Biol. Int. n/a–n/a. doi:10.1002/cbin.10466

Yu, Z., Lowndes, J., Rippe, J., 2013. High-fructose corn syrup and sucrose have equivalent effects on energy-regulating hormones at normal human consumption levels. Nutr. Res. 33, 1043–1052. doi:10.1016/j.nutres.2013.07.020

Yun, C.-H., Yang, J.S., Kang, S.-S., Yang, Y., Cho, J.H., Son, C.G., Han, S.H., 2007. NF-κB signaling pathway, not IFN-β/STAT1, is responsible for the selenium suppression of LPS-induced nitric oxide production. Int. Immunopharmacol. 7, 1192–1198. doi:10.1016/j.intimp.2007.05.002

Zago, M.P., Oteiza, P.I., 2001. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. Free Radic. Biol. Med. 31, 266–274. doi:10.1016/S0891-5849(01)00583-4

Zavaroni, I., Chen, Y.-D.I., Reaven, G.M., 1982. Studies of the mechanism of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. Metabolism 31, 1077–1083. doi:10.1016/0026-0495(82)90155-X

Zhang, H., Davies, K.J.A., Forman, H.J., 2015. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. Free Radic. Biol. Med. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.036

Zhang, H.J., Xu, L., Drake, V.J., Xie, L., Oberley, L.W., Kregel, K.C., 2003. Heat-induced liver injury in old rats is associated with exaggerated oxidative stress and altered transcription factor activation. FASEB J. doi:10.1096/fj.03-0139fje

Zhang, X.-W., Hou, W.-S., Li, M., Tang, Z.-Y., 2015. Omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline in the elderly: a meta-analysis of randomized controlled trials. Aging Clin. Exp. Res. 1–2. doi:10.1007/s40520-015-0381-9

Zhang, Y., Leung, D.Y.M., Richers, B.N., Liu, Y., Remigio, L.K., Riches, D.W., Goleva, E., 2012. Vitamin D Inhibits Monocyte/Macrophage Proinflammatory Cytokine Production by Targeting MAPK Phosphatase-1. J. Immunol. 188, 2127–2135. doi:10.4049/jimmunol.1102412

Zhu, K., Nie, S., Li, C., Huang, J., Hu, X., Li, W., Gong, D., Xie, M., 2013. Antidiabetic and Pancreas-Protective Effects of Zinc Threoninate Chelate in Diabetic Rats may be Associated with its Antioxidative Stress Ability. Biol. Trace Elem. Res. 153, 291–298. doi:10.1007/s12011-013-9675-y

Zhu, Y., Hu, Y., Huang, T., Zhang, Y., Li, Z., Luo, C., Luo, Y., Yuan, H., Hisatome, I., Yamamoto, T., Cheng, J., 2014. High uric acid directly inhibits insulin signalling and induces insulin resistance. Biochem. Biophys. Res. Commun. 447, 707–714. doi:10.1016/j.bbrc.2014.04.080

Au cours du vieillissement, l'organisme subit de nombreuses altérations, dont une perte de masse et de fonction musculaire appelée sarcopénie. Ses causes sont multifactorielles. Elle est partiellement liée à une altération de la stimulation de la synthèse protéique musculaire post-prandiale, et certains facteurs tels que le stress oxydant, l'inflammation et la résistance à l'insuline, responsables de nombreux dysfonctionnements métaboliques, accélèrent ce phénomène. Or, ces dérégulations peuvent être induites par une alimentation trop riche en sucres ajoutés, caractéristique des habitudes alimentaires actuelles et qui pourrait donc accélérer le vieillissement. Pourtant, à ce jour, peu d'études ont étudié les effets combinés du vieillissement et d'un régime riche en sucres ajoutés, et à notre connaissance, aucune ne s'est intéressée à la sarcopénie. Ainsi, notre objectif au cours de cette thèse a été de déterminer si un régime riche en sucres ajoutés était capable d'accélérer la sarcopénie. Il était également intéressant d'étudier les effets combinés du vieillissement et de ce régime sur d'autres tissus qui semblent particulièrement exposés, le foie, et le cerveau. Enfin, nous avons également voulu analyser les effets préventifs d'un mélange de micronutriments à la fois *in vivo* et *in vitro*.

Pour cela, des rats âgés de 16 mois ont été nourris durant 5 mois avec un régime contrôle ou un régime composé à 62% de saccharose, supplémenté ou non en rutine, vitamine A, vitamine E, vitamine D, zinc, et sélénium. En outre, nous avons également inclut un groupe de témoins adultes (8 mois), nourris avec un régime contrôle. Par ailleurs, les effets anti-inflammatoires des micronutriments ont été testés *in vitro*.

Nous avons pu constater que le régime riche en saccharose a accéléré la perte de masse musculaire liée à l'âge en altérant la synthèse protéique musculaire post prandiale, vraisemblablement *via* l'altération de la sensibilité à l'insuline plutôt que par une augmentation du stress oxydant et de l'inflammation, qui ont été peu affectés par le régime. Il a également entraîné un gain de masse grasse et une augmentation marquée des triglycérides hépatiques et plasmatiques, qui pourraient en partie s'expliquer par une modification de l'activité des enzymes du métabolisme lipidique dans le foie. Au niveau cérébral, la surconsommation de fructose a entraîné une diminution de la concentration protéique qui ne semble pas due à un défaut de synthèse protéique. La supplémentation en micronutriments n'a que partiellement contrecarré les effets du saccharose puisqu'elle n'a pas eu d'effet sur la masse maigre mais a permis de limiter la prise de masse grasse, notamment en inhibant la lipogenèse hépatique. Elle a également restauré la synthèse protéique diminuée au cours du vieillissement dans le cerveau. *In vitro*, elle a permis de réduire l'inflammation induite expérimentalement.

Ainsi, cette thèse a permis de montrer qu'un régime riche en sucres ajoutés accélère la sarcopénie chez le rat âgé mais entraîne également des altérations au niveau hépatique et cérébral. La prévention par les micronutriments testés reste malgré tout limitée.

Mot clés : sarcopénie – sucre – vieillissement – synthèse protéique – métabolisme lipidique – micronutriments – stress oxydant – inflammation – sensibilité à l'insuline –foie – cerveau

With aging, several alterations occur, including a loss of muscle mass and function, called sarcopenia. Many factors are responsible for the development of sarcopenia, but some factors as inflammation, oxidative stress and insulin resistance, which have many deleterious effects during aging, can reduce meal-induced stimulation of muscle protein synthesis which was shown to partly explain age-related muscle mass loss. Those factors can be induced by a diet rich in added sugar, characteristic of current dietary habits. Although this kind of diet could accelerate aging features, little is known about combined effect of aging and high sugar diet, particularly on sarcopenia. Thus, the purpose of this work was to determine whether high chronic intake of added sugars could accelerate sarcopenia. We also interested in the combined effect of added sugars and aging on other exposed tissues: liver and brain. Finally, we assessed the preventive effects of a micronutrient supplementation both in vivo and in vitro.

In order to do that, for 5 months, 16 month old rats were starch fed or sucrose fed (62% sucrose), with or without micronutrients supplementation (rutin, vitamin A, vitamin E, vitamin D, selenium and zinc). Additionally, an adult control group of 8 month old rats was included. Besides, anti-inflammatory effects of micronutrients were tested in vitro.

We showed that high sucrose diet accelerated age-related muscle mass loss by impairing postprandial protein synthesis, likely through decreased insulin sensitivity since inflammation and oxidative stress were only slightly affected by high sucrose diet. This diet also resulted in fat mass gain and increased plasma and liver triglycerides, by modulating the activity of enzymes involved in liver lipid metabolism. In the brain, high sucrose consumption led to decreased protein concentration independently of protein synthesis alteration. Micronutrients supplementation only partially reversed high sucrose diet effects: it did not act on lean body mass but prevented fat mass gain, by inhibiting hepatic lipogenesis. It also restored brain protein synthesis, which was reduced by aging. In vitro, it reduced experimentally induced inflammation.

Thus, this work showed that a high sucrose diet accelerates sarcopenia in old rats but also induces liver and brain alterations. Prevention by micronutrients remained limited.

Key words : sarcopenia – sugar – aging – protein synthesis – lipid metabolism – micronutrients – oxidative stress – inflammation – insulin sensitivity – liver – brain