UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

LES EFFETS À COURT TERME D'UNE DIÈTE RICHE EN LIPIDES SUR LE MÉTABOLISME ET LES FONCTIONS MUSCULAIRES DE JEUNES RATS

THÈSE

PRÉSENTÉE

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DU DOCTORAT EN BIOLOGIE

PAR

DAVID ANDRICH

JANVIER 2019

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mes directeurs Alain-Steve Comtois et David H. St-Pierre, sans qui ce doctorat aurait été impossible.

Je remercie aussi tous les membres du laboratoire et les stagiaires, plus particulièrement François, Ya, Lilya et Jean-Philippe.

Merci à tous nos collaborateurs de recherche, en particulier Gawiyou et Gilles.

Je tiens aussi à remercier tous les employés de l'UQAM qui m'ont aidé à travers les années, plus spécifiquement Zied, Paul et Jean.

Un grand merci à toute ma famille et ma belle-famille pour leur soutien.

Merci à mes amis et à mes anciens collègues de travail.

Un merci spécial à ma machine à café (Café Roma; Breville, Sydney, Australie) pour m'avoir gardé éveillé.

Surtout, merci à Anthony pour la motivation et à Marie-Pier pour sa patience.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES vii

LISTE DES TABLEAUX ix

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES x

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS xviii

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I PROBLÉMATIQUE 3

CHAPITRE II HYPOTHÈSES ET QUESTION DE RECHERCHE 5

CHAPITRE III RECENSEMENT DES ÉCRITS 7

3.1 Obésité 7

3.1.1 Les causes de l'obésité 8
3.1.2 Les conséquences de l'obésité 11
3.1.3 Les stratégies contre l'obésité 13

3.2 Les diètes riches en lipides 15

3.2.1 Le modèle animal 17
3.2.2 Les effets d'une diète riche en lipides 26

3.3 Le muscle squelettique 40

3.2.1 Les types de fibre musculaire 45
3.2.2 La résistance à l'insuline 50

3.4 Le stress oxydant et l'inflammation 53

3.4.1 Le glutathion 58

CHAPITRE IV MÉTHODOLOGIE 65

4.1 Animaux 65
4.2 Diètes 66
4.3 Chambres métaboliques 67
4.4 Ghréline 68
4.5 Contractilité musculaire 68
4.6 Typage des fibres musculaires 70
4.7 Lipides intramyocellulaires 70
4.8 Microscopie et analyse des images 71
4.9 Western blot 72
4.10 Glutathion 73
4.11 RT-qPCR 73
4.12 RNA-Seq 74
4.13 Analyses statistiques 75

CHAPITRE V ALTERED FEEDING BEHAVIORS AND ADIPOSITY PRECEDE OBSERVABLE WEIGHT GAIN IN YOUNG RATS SUBMITTED TO A SHORT-TERM HIGH-FAT DIET 77
5.1 Abstract 78
5.2 Introduction 79
5.3 Materials and methods 81
5.3.1 Animal procedures 81
5.3.2 Diets 82
5.3.3 Metabolic chambers 82
5.3.4 Ghrelin assay 83
5.3.5 Statistical analyses 84
5.4 Results 84
5.5 Discussion 86
5.6 Conclusions 90
5.7 Conflict of interest 91
5.8 Acknowledgements 91
5.9 References 92
5.10 Tables 100

5.11 Figures 102

5.12 Figure legends 107

CHAPITRE VI ALTERED LIPID METABOLISM IMPAIRS SKELETAL MUSCLE FORCE IN YOUNG RATS SUBMITTED TO A SHORT-TERM HIGH-FAT DIET 109

6.1 Abstract 110

6.2 Introduction 111

6.3 Materials and methods 112

6.3.1 Animal procedures 112
6.3.2 Diets 113
6.3.3 Muscle contractility 113
6.3.4 Muscle fiber phenotype 114
6.3.5 Western blotting 116
6.3.6 Lipid content 116
6.3.7 Slide imaging & image analysis 117
6.3.8 RT-qPCR 117
6.3.9 Statistical analyses 118

6.4 Results 119

6.5 Discussion 120

6.6 Data availability 126

6.7 Author contributions 126

6.8 Conflict of interest statement 126

6.9 Acknowledgments 127

6.10 Footnotes 127

6.11 References 128

6.12 Tables 137

6.13 Figures 140

6.14 Figure legends 145

CHAPITRE VII A SHORT-TERM HIGH FAT DIET ALTERS GLUTATHIONE LEVELS IN OXIDATIVE SKELETAL MUSCLES OF YOUNG RATS 147

7.1 Abstract 148

7.2 Introduction 149

7.3 Materials and methods 150
7.3.1 Animal procedures 150
7.3.2 Diets 151
7.3.3 Glutathione measurements 151
7.3.4 RNA extraction 152
7.3.5 RNA sequencing 152
7.3.6 Statistical analyses 153
7.4 Results 153
7.5 Discussion 154
7.6 Conclusions 158
7.7 Acknowledgements 159
7.8 Conflict of interest 159
7.9 References 160
7.10 Figures 168
7.11 Figure Legends 171

CHAPITRE VIII DISCUSSION 172

CONCLUSION 179

ANNEXE A AUTRES TRAVAUX 180

RÉFÉRENCES 181

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1 : Version revisée du Dynamic Vulnerability Model of Obesity 10

Figure 3.2 : Facteurs variables d'un protocole d'obésité induite par la diète 18

Figure 3.3 : Évolution du poids de rats soumis à une diète riche en lipides 25

Figure 3.4 : Structure du muscle squelettique 41

Figure 3.5 : Mécanisme de résistance à l'insuline 52

Figure 3.6 : Lien bidirectionnel entre le stress oxydant et l'inflammation 55

Figure 3.7 : La synthèse du glutathion 59

Figure 3.8 : Les fonctions antioxydantes du glutathion 60

Figure 5.1 102

Figure 5.2 103

Figure 5.3 104

Figure 5.4 105

Figure 5.5 106

Figure 6.1 140

Figure 6.2 141

Figure 6.3 142

Figure 6.4 143

Figure 6.5 144

Figure 7.1 168

Figure 7.2 168

Figure 7.3 169

Figure 7.4 169

Figure 7.5 170

LISTE DES TABLEAUX

Table 5.1: Ingredient composition of the high-fat diet (HFD) 100

Table 5.2 : Average daily food and water intake over a 14-day period 101

Table 6.1: Primers used for quantitative real-time PCR 137

Table 6.2: Biometric parameters of RCD and HFD rats. 139

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

•OH	Radical hydroxyle
ACCα	*Acetyl-CoA carboxylase 1*
ACSA	Aire transversale anatomique
ACSS2	*Acyl-coenzyme A synthetase short-chain family member 2*
ACTN3	*α-actinin-3*
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AEBSF	Fluorure de 4-(2-aminoéthyl)benzènesulfonyle
AG	Ghréline acylée
AgRP	*Agouti-related peptide*
Akt	Protéine kinase B
AMPK	*AMP-activated protein kinase*
apoA-IV	Apolipoprotéine A-IV

ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
BSA	Albumine de sérum bovin
Ca	Calcium
CaMK	*Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase*
CAT	Catalase
CCK	Cholécystokinine
CD36	*Cluster of differentiation 36*
cDNA	ADN complémentaire
C/EBP	*CCAAT-enhancer-binding protein*
CIPA	Comité Institutionnel de Protection des Animaux
CO_2	Dioxyde de carbone
CSA	Aire transversale
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole

DGAT	Diglycéride acyltransférase
EDL	*Extensor digitorum longus*
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
ELISA	Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée
EPA	Acide eicosapentaénoïque
FABP4	*Fatty acid binding protein 4*
FAS	Acide gras synthase
FDR	*False discovery rate*
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GCL	Glutamate-cystéine ligase
GGT	γ-glutamyltransférase
GHSR	*Growth hormone secretatogue receptor*
GIP	Peptide insulinotrope dépendant du glucose
GLP-1	*Glucagon-like peptide-1*
GLUT4	Transporteur de glucose 4

GOAT	Ghréline O-acyltransférase
GPX	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GSR	Glutathion réductase
GSS	Glutathion synthase
GSSG	Disulfide de glutathion
H	Hydrogène
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
HCL	Acide chlorhydrique
HDAC4	*Histone deacetylase 4*
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
HFD	Diète riche en lipides
IKK	IκB kinase
IL	Interleukine
IMC	Indice de masse corporelle

IRS-1	*Insulin receptor substrate 1*
JNK	*c-Jun N-terminal kinase*
K	Potassium
LD	Gouttelette lipidique
LPL	Lipoprotéine lipase
mARN	ARN messager
MDA	Malondialdehyde
MEF2	*Myocyte enhancer factor-2*
MHC	Chaîne lourde de myosine
MTR	Méthionine synthase
MYL1	*Myosin light chain 3, skeletal muscle isoform*
MYOG	Myogénine
NaCl	Chlorure de sodium
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite

NaF	Fluorure de sodium
NF-κB	*Nuclear factor* κB
NFAT	Facteur nucléaire des lymphocytes T actives
NOX	NADPH oxydase
NPY	Neuropeptide Y
Nrf2	*Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2*
O_2	Oxygène
$O_2^{\bullet-}$	Superoxyde
OMS	Organisation mondiale de la santé
PBS	Tampon phosphate salin
PCSA	Aire transversale physiologique
PGK1	*Phosphoglycerate kinase 1*
PFK	Phosphofructokinase
PKCθ	Protéine kinase C θ
PGC-1α	Coactivateur gamma de récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes 1α

POMC	Pro-opiomélanocortine
PP	Polypeptide pancréatique
PP2A	Protéine phosphatase 2A
PPAR	Récepteur activé par les prolifératateurs de peroxysomes
PPIB	Cyclophiline B
PSMC4	*26S protease regulatory subunit 6B*
PUM1	*Pumilio homolog 1*
PVDF	Polyfluorure de vinylidène
PYY	Peptide YY
RCD	Diète régulière
RER	Ratio d'échange respiratoire
RNA-Seq	Séquençage de l'ARN
ROOH	Hydroperoxyde organique
ROS	Dérivés réactifs de l'oxygène
RPL30	*60S ribosomal protein L30*

RT-qPCR	Réaction en chaîne par polymérase en temps réel
SD	Écart type
SDH	Succinate déshydrogénase
SLC27A4	*Long-chain fatty acid transport protein 4*
SOD	Superoxyde dismutase
SOL	Soléaire
TAG	Triglycérides
TGF	*Transforming growth factor*
T_h	Lymphocyte T auxiliaire
TFAM	*Mitochondrial transcription factor A*
TLR4	*Toll-like receptor 4*
TNF-α	*Tumor necrosis factor α*
UAG	Ghréline désacylée

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

°C	Degré Celsius
µg	Microgramme
µl	Microlitre
µm	Micromètre
µM	Micromole
AU	Unité arbitraire
g	Gramme
Hz	Hertz
kcal	Kilocalorie
kg	Kilogramme
kJ	Kilojoule
l	litre
hr	heure

m	Mètre
mg	Milligramme
min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Millimole
ms	Milliseconde
N	Newton
nm	Nanomètre
nmol	Nanomole
pg	Picogramme
pH	Potentiel hydrogène
s	Seconde

RÉSUMÉ

L'obésité et les troubles qui en découlent sont de plus en plus répandus dans la population générale ainsi que chez les jeunes enfants et adolescents. Les diètes à haute teneur en calories et les mauvaises habitudes alimentaires sont parmi les principales causes de ce phénomène. Les diètes riches en lipides (HFD), étant plus denses en calories, contribuent grandement à un bilan énergétique positif. Au-delà de ce fait, il a également été démontré que les HFD modifient les comportements alimentaires et d'activité physique, les fonctions du muscle squelettique ainsi que certains mécanismes d'oxydoréduction. Cependant, les multiples mécanismes sous-jacents à ces altérations restent, pour la plupart, nébuleux. En outre, la genèse et les interrelations entre ces diverses fonctions métaboliques et musculaires, en réaction à une HFD, restent en grande partie non explorées. Par conséquent, cette étude vise à clarifier les effets d'une HFD à court terme sur une jeune population.

Pour ce faire, de jeunes rats mâles Wistar (100-125 g) ont été soumis à des diètes riches en lipides (HFD) ou régulieres (RCD) durant 14 jours. Plusieurs paramètres comportementaux, y compris la consommation de nourriture et d'eau, les habitudes alimentaires, l'activité ambulatoire et les habitudes de sommeil ont été enregistrés en continu à l'aide de chambres métaboliques. Le ratio d'échange respiratoire (RER) et la production d'énergie ont également été mesurés. Dans un second protocole, diverses fonctions du muscle squelettique ont été étudiées. La force spécifique, la résistance à la fatigue et la récupération de la fatigue ont été testées dans les muscles *extensor digitorum longus* (EDL, glycolytique) et soléaires (SOL, oxydatif) en utilisant un système de contractilité musculaire *ex vivo*. L'analyse du type et de la taille des fibres musculaires ainsi que la caractérisation des gouttelettes lipidiques intramyocellulaires (LD) ont également été effectuées. En outre, les enzymes impliquées dans la voie de signalisation de l'insuline ont été mesurées par Western blot et la méthode RT-qPCR a été utilisée afin de quantifier l'expression des médiateurs du métabolisme des lipides. Dans une troisième série d'expériences, les taux de glutathion réduit (GSH) et oxydé (GSSG) ont été mesurés dans les muscles SOL de jeunes rats afin d'évaluer le stress oxydatif et le potentiel redox. En outre, l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la signalisation redox du glutathion a été mesurée par séquençage de l'ARN.

Nous avons constaté que, dans les 3 différents protocoles, le gain de poids total était

similaire entre les deux groupes. Cependant, des dépôts de gras viscéral plus lourds et des foies plus légers ont été observés chez les rats HFD. Chez ces derniers, l'apport calorique total est aussi augmenté, mais les repas sont d'une plus courte durée et l'apport calorique de chaque repas plus élevé. L'activité ambulatoire et la durée du sommeil sont diminuées chez les rats HFD durant la phase passive et active, respectivement. Les niveaux de ghréline acylée et désacylée n'ont pas été modifiés par l'augmentation de l'apport calorique ni par changements précoces de la composition corporelle. D'autre part, la force spécifique a diminué dans le SOL, mais pas dans l'EDL des rats HFD. La résistance musculaire à la fatigue et la récupération de la force n'ont pas été altérées par les diètes, une observation confirmée par la typologie des fibres musculaires inchangées. Cependant, l'aire transversale moyenne des gouttelettes lipidiques intramyocellulaires a significativement augmenté dans le SOL des rats HFD. Ces effets concordent avec l'expression accrue de plusieurs médiateurs du métabolisme des lipides dans le muscle SOL. Pourtant, ces changements n'ont pas altéré la signalisation du récepteur à l'insuline après 2 semaines. Nous avons également observé des niveaux de GSH significativement plus bas dans les muscles SOL des rats HFD. Les niveaux de GSSG étaient similaires dans les deux groupes et le rapport GSH / GSSG n'était pas significativement différent, pas plus que le potentiel redox calculé.

Nos recherches démontrent qu'un régime obésogène à court terme modifie la composition corporelle, les habitudes alimentaires, la satiété, l'activité ambulatoire, le sommeil, la force du muscle squelettique, l'accumulation intramyocellulaire de lipides, le métabolisme lipidique et les niveaux de glutathion chez le jeune rat. De plus, ces effets précèdent des changements significatifs dans l'augmentation du poids ainsi que l'apparition de l'obésité et des troubles métaboliques. Ces résultats indiquent que l'excès de lipides alimentaires affecte divers comportements ainsi que plusieurs fonctions musculaires, indépendamment de l'obésité. De plus, ces résultats permettront de mieux comprendre les adaptations précoces à ce type de diète dans une jeune population ainsi que les mécanismes sous-jacents responsables des phénomènes observés.

Mots clés: diète riche en lipides, jeunes rats, métabolisme, muscle squelettique, stress oxydatif

ABSTRACT

Obesity and ensuing disorders are increasingly prevalent in the general and pediatric population. Calorie-rich diets and bad eating habits are one of the main causes of this phenomenon. High-fat diets (HFD), being more calorie-dense, greatly contribute to a positive energy balance. Beyond this fact, HFDs have also been shown to alter feeding and activity behaviors, skeletal muscle functions as well as redox signalling. However, the multiple underlying mechanisms responsible for these alterations remain, for the most part, nebulous. Further, the onset and interrelations between these various metabolic and muscular functions in response to a HFD remain largely uncharacterized. Hence, this study aimed at clarifying the effects of a short-term HFD in a young population.

In order to do this, young male Wistar rats (100-125 g) were submitted to high-fat (HFD) or regular chow (RCD) diets for 14 days. Several behavioral parameters, including food and water intake, feeding patterns, ambulatory activity and sleeping patterns were continuously monitored using metabolic chambers. Respiratory exchange ratio (RER) and energy production were also measured. In a second protocol, various skeletal muscle functions were investigated. Specific force, resistance to fatigue and fatigue recovery were tested in the *extensor digitorum longus* (EDL; glycolytic) and soleus (SOL; oxidative) muscles using an *ex vivo* muscle contractility system. Analyses of muscle fiber type and size as well as intramyocellular lipid droplet (LD) characterizations were also performed. Further, enzymes involved in the insulin signalling pathway were measured by Western blotting and RT-qPCR was used to quantify the expression of mediators of lipid metabolism. In a third set of experiment, reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione were measured in the SOL muscles of young rats in order to assess oxidative stress and redox potential. In addition, the expression of multiple genes implicated in glutathione redox signalling was measured by RNA Sequencing.

We found that, in the 3 different protocols, total weight gain was similar between groups. However, heavier visceral fat depots and reduced liver weights were observed in HFD rats. Total calorie intake was increased, but individual feeding bouts were shorter and of higher calorie intake in the HFD group. Ambulatory activity and sleep duration were decreased in HFD rats during passive and active phase, respectively. Both acylated and unacylated ghrelin levels were unaltered by the increased calorie

intake and the early changes in body composition. On the other hand, specific force was decreased in the SOL, but not in the EDL of HFD rats. Muscle resistance to fatigue and force recovery were not altered by diets, an observation consistent with the unaltered muscle fiber typology. However, intramyocellular LD average cross-sectional area was significantly increased in the SOL of HFD rats. These effects were consistent with the increased transcription of several mediators of lipid metabolism in the SOL muscle. Yet, these changes did not impair insulin signalling after 2 weeks. We also observed significantly lower GSH levels in the SOL muscles of HFD rats. The levels of GSSG were similar in both groups and the GSH/GSSG ratio was not significantly different, nor was the calculated redox potential.

We hereby demonstrate that a short-term obesogenic diet alters body composition, feeding patterns, satiation, ambulatory activity profiles and behaviours, skeletal muscle force, intramyocellular lipid accumulation, lipid metabolism and glutathione levels in a young rat model. Moreover, these effects precede changes in weight gain, apparent obesity and ensuing metabolic disorders. This indicates that excess dietary lipids affect various behaviors and skeletal muscle functions, independent of obesity. These results, highlighting the various deleterious effects of HFD, will usher a better understanding of the early adaptations to this type of diet in a young population as well as the underlying mechanisms responsible for the observed phenomena.

Keywords: high-fat diet, young rats, metabolism, skeletal muscle, oxidative stress

INTRODUCTION

L'obésité est caractérisée par une accumulation excessive de gras corporel et atteint plus de 120 millions d'enfants et adolescents âgés entre 5 et 19 ans mondialement (WHO, 2006). Une des principales causes de l'obésité est une consommation accrue d'aliments riches en lipides à haute teneur calorique. Les diètes obésogènes riches en lipides ont aussi plusieurs autres conséquences délétères. Outre leur effet sur le métabolisme, elles peuvent influencer les comportements alimentaires, la satiété, le sommeil et l'activité physique. De plus, elles peuvent influencer plusieurs fonctions du muscle squelettique, telles la force, le phénotype des fibres, la quantité et la répartition des gouttelettes lipidiques intramusculaires ainsi que les réactions d'oxydoréduction musculaires (Ciapaite *et al.*, 2015; Eshima *et al.*, 2017; Pinho *et al.*, 2017). L'importance et la vitesse de l'apparition de ces modifications pourrait être exacerbée chez une population en croissance. Étant donné la hausse de l'obésité chez cette population ainsi que l'augmentation de plusieurs facteurs de risque du développement des troubles cardiométaboliques à l'âge adulte y étant liée, ce phénomène constitue un problème majeur. De ces faits découlent plusieurs questions. Après combien de temps, suite à une diète riche en lipides, apparaissent ces effets? Quels sont les mécanismes sous-jacents? Comment ces phénomènes sont-sils interreliés? Nous avons tenté de répondre à ces questions afin de mieux caractériser les réponses métaboliques et musculaires à court terme suite à une diète riche en lipides.

La problématique sera tout d'abord présentée. Celle-ci inclue l'explication de la mise en contexte et de la pertinence pratique et scientifique. Elle est suivie de la question de recherche et de l'élaboration des hypothèses. Suivra la présentation du contexte

théorique, soit le recensement des écrits sur le sujet. La méthodologie et les résultats sont présentés à travers 3 articles scientifiques, qui discutent aussi des résultats de l'étude. Finalement, une conclusion présentera les forces et les limites de ce projet de recherche ainsi que des voies futures qu'elle pourra ouvrir dans le domaine de la recherche sur l'obésité et les maladies métaboliques.

CHAPITRE I

PROBLÉMATIQUE

L'obésité est un problème mondial qui touche les populations de tous âges, sexes et nationalités. Son incidence est en hausse dans les pays industrialisés, dont le Canada, où les coûts liés à l'obésité dépassent les 10 milliards de dollars annuellement (Tran *et al.*, 2013). Les enfants et adolescents ne sont pas épargnés par ce phénomène. En 2016, plus de 30% des enfants Canadiens souffraient d'embonpoint (Rao, D. P. *et al.*, 2016). En plus de développer des problèmes de santé en bas âge, leur risque de rester obèse à l'âge adulte est d'autant plus augmenté, tout comme les facteurs de risque de développer des troubles cardiométaboliques qui découlent de ce surplus de masse adipeuse. Dans un contexte social favorisant un mode de vie sédentaire, l'un des facteurs majeurs contribuant à l'obésité demeure la consommation d'aliments riches en lipides ayant une charge calorique élevée.

Au-delà de leur influence sur la balance énergétique, les aliments riches en lipides contribuent à plusieurs phénomènes qui mènent à l'obésité, mais aussi à d'autres pathologies qui précèdent parfois l'apparition d'un surpoids. En effet, ces diètes peuvent affecter les mécanismes de satiété, les fonctions musculaires telles la force et la quantité de lipides intramyocellulaires ainsi que les réactions d'oxydoréduction. Toutefois, les mécanismes impliqués dans ces altérations demeurent nébuleux et la vitesse à laquelle ils sont initiés pourrait être plus rapide chez les individus en croissance. Étant donné les problèmes éthiques que causeraient des recherches impliquant des diètes à haute teneur en gras chez une population d'enfant, un modèle

animal s'avère tout indiqué. À l'aide de rats en croissance, il sera possible de déterminer la vitesse d'apparition des changements métaboliques causés par une diète riche en lipides, les mécanismes qui les régissent ainsi que les liens qui les unissent.

La présente thèse se voit donc une contribution potentielle à l'amélioration de la compréhension des effets à court terme d'une diète riche en lipides chez une population en croissance ainsi que des mécanismes les régissant. Une meilleure connaissance de ces phénomènes est une première étape vers des traitements et une prévention plus efficace des problèmes liés à l'obésité et aux maladies métaboliques.

CHAPITRE II

HYPOTHÈSES ET QUESTION DE RECHERCHE

Le but principal de l'étude était de déterminer les effets à court terme d'une diète riche en lipides sur le métabolisme et les fonctions musculaires de jeunes rats. Pour ce faire, trois protocoles spécifiques ont été effectués.

Premièrement, le but était de déterminer quels étaient les effets de la diète sur le métabolisme, les habitudes alimentaires, le sommeil et l'activité des rats. Pour y arriver, nous avons placés les animaux dans des chambres métaboliques durant les deux semaines du protocole, puis mesuré leur taux de ghréline à jeun. Notre hypothèse était que la diète influencerait le métabolisme des rats et aurait un impact sur leur satiété et la qualité de leur sommeil, en plus de diminuer leur activité ambulatoire.

Ensuite, nous avons tenté de déterminer l'impact de la diète riche en lipides sur les fonctions musculaires des rats, notamment la force spécifique, la composition en fibres musculaires, la quantité de lipides intramyocellulaires et la sensibilité du récepteur à l'insuline dans les muscles oxydatifs et glycolytiques. Pour ce faire, nous avons mesuré la force à l'aide d'un appareil de contractilité *in vitro*, en plus d'effectuer de l'immunomarquage des fibres et un marquage fluorescent neutre des gouttelettes lipidiques intramyocellulaires. Nous avons aussi déterminé la présence des enzymes impliquées dans la voie signalisation du récepteur à l'insuline par Western Blot et quantifié l'expression de certains médiateurs du métabolisme des

lipides par RT-qPCR. Notre hypothèse était que la diète riche en lipides diminuerait la force spécifique des muscles oxydatifs et soléaires, en plus d'altérer le phénotype des fibres et de stimuler la quantité et la taille des gouttelettes lipidiques. De plus, nous avons aussi émis l'hypothèse que la diète riche en lipides altérerait la signalisation du récepteur à l'insuline ainsi que le métabolisme des lipides.

Enfin, nous avions comme but de vérifier les impacts de la diète riche en lipides sur les réactions d'oxydoréduction dans le muscle oxydatif. Pour y arriver, nous avons mesuré le glutathion musculaire sous ses formes réduites et oxydées par électrophorèse capillaire, ainsi que son potentiel redox. De plus, nous avons mesuré, par séquençage de l'ARN (RNA-Seq), l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la signalisation redox du glutathion. Notre hypothèse était que la diète riche en lipide induirait une diminution des niveaux de glutathion réduit ainsi qu'une augmentation de glutathion oxydé, causant donc une diminution de son potentiel redox.

CHAPITRE III

RECENSEMENT DES ÉCRITS

3.1 Obésité

L'obésité est définie comme étant une accumulation excessive de gras corporel pouvant nuire à la santé. Un adulte est considéré en surpoids lorsque son indice de masse corporelle (IMC) dépasse 25 et obèse lorsque son IMC dépasse 30. L'IMC est calculé à partir du poids d'un individu (kg) divisé par sa taille (m) au carré (IMC = kg/m^2). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a qualifié l'obésité d'épidémie globale, touchant plus de 650 millions d'individus mondialement, soit environ 13% de la population adulte. Dans la majorité des pays, l'obésité est reliée à la mortalité dans une plus grande proportion que la malnutrition. De plus, toujours selon l'OMS, 39% de la population, soit plus de 1,9 milliards d'individus adultes, serait en surpoids (WHO, 2006).

Un enfant ou adolescent de 5 à 19 ans est considéré en surpoids lorsque son IMC est supérieur de plus d'un écart type à la valeur médiane de la charte de croissance de l'OMS; il est considéré obèse lorsque son IMC dépasse cette même valeur de plus de deux écarts types (WHO, 2006). Pour un enfant de moins de 5 ans, le même calcul est appliqué avec 2 et 3 écarts types, respectivement. En 2016, plus de 120 millions d'enfants et d'adolescents de 5 à 19 ans, ou environ 7% de cette population, étaient obèses, alors que c'était le cas pour moins de 1% de cette même population en 1975.

Toujours selon les statistiques de l'OMS, plus de 40 millions d'enfants de moins de 5 ans auraient souffert d'obésité ou de surpoids en 2016.

Cette hausse de la prévalence de l'obésité juvénile est d'autant plus évidente dans les pays industrialisés occidentaux, comme les États-Unis ou le Canada (Roberts, K. C. *et al.*, 2012). Alors qu'environ 23,3% des enfants canadiens étaient en surpoids en 1979, cette proportion a augmenté à 31,4% en 2016 (Rao, D. P. *et al.*, 2016). Bien que la prévalence de l'obésité soit plus élevée chez les individus de sexe masculin et dans les familles à faible revenu, les individus de sexe féminin ainsi que tous les groupes socio-économiques sont affectés par cette problématique. De façon encore plus évidente, les taux d'enfants obèses augmentent rapidement avec l'âge, passant de 8,5% chez les 5 à 9 ans à 12,9% chez les 10 à 14, atteignant ensuite 18,2% chez les 15 à 17 ans. Dans les 10 dernières années, les chiffres demeurent significativement stables, malgré l'ampleur connue du problème et les multiples stratégies mises de l'avant pour l'enrayer.

3.1.1 Les causes de l'obésité

De plus en plus d'études soulignent le caractère essentiel des facteurs sociodémographiques (Keane *et al.*, 2012) et psychosociaux (Torres et Nowson, 2007) dans la problématique de l'obésité. Il a été démontré que les enfants obèses qui sont victimes de jugements socialement défavorables par rapport à leur poids risquent de développer des problèmes d'obésité plus graves à l'âge adulte (Puhl et Brownell, 2001). De plus, plusieurs facteurs prénataux comme la composition corporelle de la mère (Zhang, Q. *et al.*, 2014) et l'hérédité (Silventoinen *et al.*, 2010) influencent la composition corporelle de l'enfant, tout comme l'allaitement après l'accouchement (Wang, L. *et al.*, 2017). D'autre part, le manque de sommeil a aussi été identifié comme une cause possible de l'obésité chez les enfants (Chaput *et al.*, 2011).

Malgré l'importance non négligeable de tous ces éléments, le facteur physiologique le plus important en cause dans le phénomène de l'obésité demeure la balance énergétique. Cette dernière est dépendante de deux facteurs : l'apport et la dépense énergétique. Lorsque l'apport en énergie est supérieur à la dépense, la balance énergétique est positive. Le surplus d'énergie consommée sera transformé en masse musculaire ou en masse adipeuse. À long terme, c'est cette accumulation de masse adipeuse qui causera l'obésité. Considérant que le métabolisme de base, qui constitue environ 70% de la dépense énergétique quotidienne, est difficilement modifiable à court terme, l'activité physique est le principal facteur modulant la dépense énergétique (Westerterp, 2013). Il est important de savoir que la plupart des enfants canadiens n'atteignent pas les critères minimaux d'activité physique quotidienne recommandés par le guide *Directives en matière de mouvement sur 24 heures* de la Société Canadienne de Physiologie de l'Exercice (SCPE) (Colley *et al.*, 2017). De plus, la majorité de cette population adopte des comportements et un mode de vie sédentaires (Tremblay *et al.*, 2011). Cette sédentarité, jumelée au manque d'activité physique, sont donc les deux principales causes d'une dépense énergétique réduite, ce qui contribue grandement au développement de l'obésité.

D'autre part, l'apport énergétique quotidien d'un individu est plus facilement modulable que sa dépense énergétique totale. C'est pour cette raison que la diète est considérée comme la cause principale de l'obésité (Kuzbicka et Rachon, 2013). Le choix des aliments, chez l'enfant, est sans contredit influencé par des facteurs familiaux (Moens *et al.*, 2009), socioculturels (Budd et Hayman, 2008) et psychologiques (Zametkin *et al.*, 2004). Au niveau physiologique, les deux principaux facteurs influençant la prise alimentaire sont l'appétit et la récompense (Zilberter, 2015). Les aliments riches en sucre et en lipides sont reconnus comme activant de façon importante plusieurs régions du cerveau, dont le centre gustatoire, le cortex somato-sensoriel, le putamen, le striatum et les régions associées au système de récompense (Stice *et al.*, 2013). Ce dernier, chez les individus obèses, subit

d'ailleurs plusieurs modifications, dont Stice et Yokum proposent un modèle revisé (Stice et Yokum, 2016) (Figure 3.1).

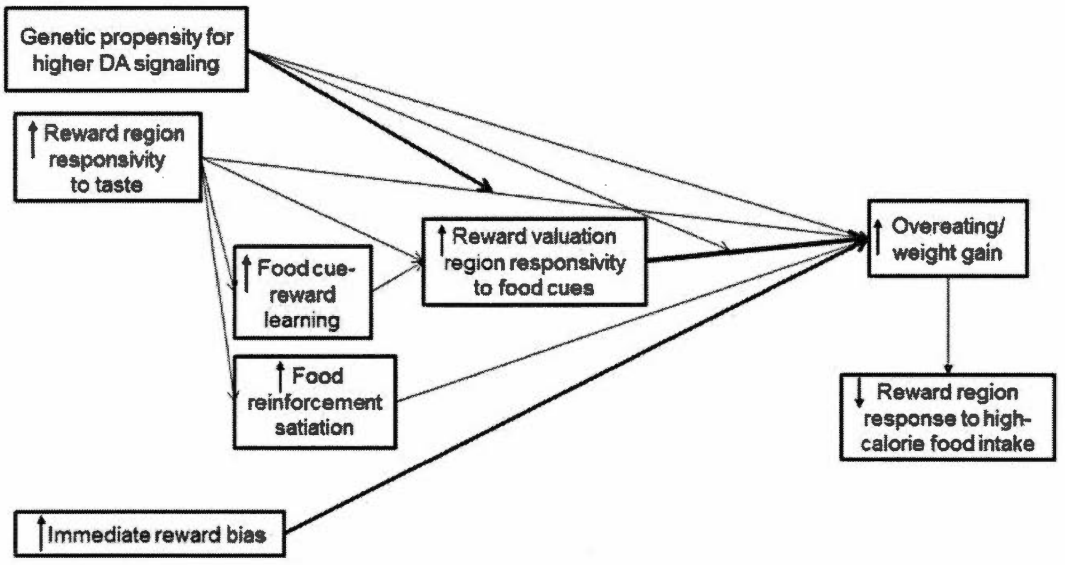


Figure 3.1 : Version revisée du Dynamic Vulnerability Model of Obesity

Les mécanismes contrôlant l'appétit et la satiété sont complexes et dépendent de plusieurs neurones et hormones. Au niveau central, l'appétit est principalement contrôlé dans le noyau arqué de l'hypothalamus, mais aussi dans le sillon latéral dorsal du tronc cérébral, d'où émerge le nerf vague (Stanley *et al.*, 2005). Plusieurs hormones gastrointestinales contribuent aussi à ces modulations, dont le neuropeptide Y (NPY), le peptide YY (PYY), le polypeptide pancréatique (PP), le *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), l'oxyntomoduline, le glucagon, la ghréline, l'obéstatine, la cholécystokinine (CCK) et l'amyline (Suzuki *et al.*, 2012). D'autres hormones comme l'insuline (Air *et al.*, 2002) et la leptine (Hussain, Z. et Khan, 2017) jouent aussi un rôle important dans les mécanismes de satiété. Chez les individus obèses, ces mécanismes sont souvent altérés, ce qui favoriserait une prédominance du système de

récompense, résultant ainsi en une consommation d'aliments riches en sucre et en lipides (Hussain, S. S. et Bloom, 2013). En plus d'avoir une densité calorique plus élevée, il a été démontré que les aliments riches en gras causent moins la satiété que les aliments riches en glucides (Cotton *et al.*, 2007) ou en protéines (Ortinau *et al.*, 2014). En consommant ces aliments riches en gras, les individus obèses ingèrent donc plus de calories sans stimuler les mécanismes de satiété de façon proportionnelle à la charge calorique, perpétuant ainsi un cercle vicieux difficile à combattre (la Fleur *et al.*, 2007).

3.1.2 Les conséquences de l'obésité

Les conséquences de l'obésité sont nombreuses et touchent plusieurs sphères interreliées. Selon l'Institut McKinsey, les coûts mondiaux annuels reliés à l'obésité dépasseraient 2 trillions de dollars en 2012, ce qui en ferait le troisième plus coûteux problème social généré par l'homme après le tabagisme et la violence armée, la guerre et le terrorisme, qui coûtent chacun environ 2,1 trillions annuellement (Dobbs *et al.*, 2014). Au Canada seulement, les coûts liés à l'obésité dépasseraient les 10 milliards de dollars, soit environ 4% du budget alloué à la santé (Tran *et al.*, 2013). Particulièrement chez les enfants et les adolescents, l'obésité augmente le risque de développer plusieurs maladies ou troubles psychologiques. En effet, les cas de dépression et d'anxiété sont plus courants chez les enfants souffrant d'embonpoint (Anton *et al.*, 2006). Ces derniers ont aussi plus de chances de développer des problèmes d'estime de soi (Franklin *et al.*, 2006), des problèmes comportementaux (Sawyer *et al.*, 2011) et des troubles alimentaires restrictifs (Lebow *et al.*, 2015). Ils courent aussi plus de risques d'être victimes d'intimidation (Neumark-Sztainer *et al.*, 2002), ce qui peut les mener à développer un trouble psychologique ou à exacerber un trouble préexistant.

Il existe toujours un débat à savoir si l'obésité est une maladie en soi. Le concept récent d'obèses métaboliquement en santé (Karelis *et al.*, 2004; Phillips, 2013) démontre qu'il est possible d'être obèse sans pour autant souffrir d'aucune maladie. Toutefois, le surplus de poids de ces individus augmente leurs risques de développer, tôt ou tard, d'autres problèmes de santé. L'obésité est considérée comme un facteur de risque indépendant de maladies cardiovasculaires, incluant l'hypertension, l'angine de poitrine, les maladies coronariennes, l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque, la fibrillation atriale et l'accident vasculaire cérébral (Klein *et al.*, 2004). De plus, un IMC élevé a été associé à un risque accru de développer un cancer, indépendamment du type (Calle *et al.*, 2003). L'obésité est le facteur de risque principal dans le développement de l'apnée obstructive du sommeil, un trouble pouvant mener à plusieurs complications cardiaques (Pillar et Shehadeh, 2008). L'embonpoint est aussi lié à d'autres maladies, telles la stéatose hépatique non-alcoolique (Church *et al.*, 2006), la pancréatite aiguë (Martinez *et al.*, 2006) et plusieurs troubles de la vésicule biliaire, dont la lithiase biliaire (Tsai *et al.*, 2004). L'obésité, surtout chez les personnes plus âgées, augmente aussi le risque de développer de l'arthrose dans les membres inférieurs, notamment au niveau de la hanche et du genou, ce qui réduit leur mobilité et leur qualité de vie (Tukker *et al.*, 2009).

Toutefois, la maladie la plus associée à l'obésité demeure le diabète de type 2. En effet, il est estimé qu'environ 90% des individus souffrant de diabète de type 2 sont obèses ou en surplus de poids (Whitmore, 2010). Les chances de développer cette maladie sont triplées chez les individus en surplus de poids et 7 fois plus élevées chez les individus obèses comparativement aux individus ayant un IMC normal (Abdullah *et al.*, 2010). Aux Etats-Unis, la prévalence du diabète augmente parallèlement avec celle de l'obésité depuis 20 ans (Barnes, 2011). Évidemment, la plus grande incidence de toutes ces maladies chez cette population résulte en un taux de mortalité beaucoup plus élevé (Flegal *et al.*, 2007).

Chez les enfants, l'obésité a causé l'apparition de maladies autrefois observées seulement chez les adultes, telles l'hypertension, l'hyperlipidémie et le diabète de type 2 (Gungor *et al.*, 2005). Les adolescents obèses sont aussi plus à risque de développer des troubles de la puberté, de l'asthme, de l'apnée du sommeil, une stéatose hépatique et des troubles musculosquelettiques (Reilly *et al.*, 2003). D'autre part, les enfants et adolescents obèses ont plus de chance de rester obèses à l'âge adulte, ainsi que de développer une obésité morbide (The *et al.*, 2010). Les facteurs de risque causés par l'obésité, une fois à l'âge adulte, sont aussi augmentés chez les individus qui souffraient d'obésité à l'enfance ou à l'adolescence (Franks *et al.*, 2010). Certaines études avancent même que l'obésité à l'adolescence augmenterait les risques de mortalité à l'âge adulte, indépendamment de l'IMC à l'âge adulte (Must *et al.*, 1992). Il semblerait donc que les effets d'une obésité en bas âge pourraient se répercuter à très long terme dans l'âge adulte. De plus, le gain de poids d'un enfant en très bas âge se révèle être un excellent prédicteur d'obésité infantile et même d'obésité à l'âge adulte (Druet *et al.*, 2012). Un gain de poids plus rapide chez des bébés nourris avec une formule enrichie augmenterait même les risques d'obésité à l'enfance (Singhal *et al.*, 2010). Ces faits démontrent à quel point les mécanismes d'obésité sont déclenchés rapidement ainsi que leur persistance dans le temps.

3.1.3 Les stratégies contre l'obésité

Devant l'ampleur du problème de l'obésité, plusieurs stratégies sont mises de l'avant pour le combattre. La chirurgie constitue la méthode la plus coûteuse et invasive, sans toutefois être la plus efficace. La liposuccion, qui consiste à retirer du gras sous-cutané majoritairement dans la région abdominale, n'offre pas les mêmes bénéfices métaboliques qu'une perte de poids due à la diète et à l'exercice (Seretis *et al.*, 2015). En fait, cette procédure pourrait mener à une augmentation compensatoire de gras viscéral, qui est plus métaboliquement dommageable (Benatti *et al.*, 2012). La

chirurgie bariatrique, elle, consiste à réduire la taille de l'estomac par diverses méthodes. Bien que cette méthode puisse être efficace dans certains cas (Wolfe *et al.*, 2016), plusieurs des individus ayant eu recours à cette intervention reprennent le poids perdu (Alvarez *et al.*, 2016) et sont à risque de développer de l'anémie, des carences en vitamines, minéraux et protéines ainsi que des troubles du métabolisme osseux (Lupoli *et al.*, 2017). Jadis prometteuse, l'avenue de l'intervention pharmacologique n'a donné jusqu'à maintenant que des résultats mitigés jumelés à des effets secondaires non désirables (Viner *et al.*, 2010). La méthode la plus courante de gestion de l'obésité demeure la modification de la balance énergétique, soit par une augmentation de la dépense énergétique ou par une diminution de l'apport calorique. Plus de la moitié des Américains souffrant d'obésité tenteraient de perdre du poids (Andreyeva *et al.*, 2010). Cependant, seulement 1 individu sur 6 réussit à maintenir une perte d'au moins 10% de son poids corporel après un an (Kraschnewski *et al.*, 2010). Ces individus doivent effectivement combattre de nombreuses altérations physiologiques stimulant le regain de poids (Greenway, 2015). Une perte de poids soutenue sans une modification importante du mode de vie s'avère donc une tâche ardue (Dalle Grave *et al.*, 2010).

Les interventions contre l'obésité s'avèrent toutefois plus efficaces chez les enfants et les adolescents. Bien que l'exercice soit un moyen efficace de combattre l'obésité dans cette population (Sothern, 2001), les programmes d'intervention comportementale sont de plus en plus utilisés (Stewart *et al.*, 2009). D'autre part, la meilleure voie pour combattre l'obésité infantile semble être la prévention. Effectivement, l'efficacité des programmes de prévention contre l'obésité a été démontrée dans une population d'âge scolaire (Waters *et al.*, 2011) et aussi d'âge préscolaire (Hesketh et Campbell, 2010). Au Canada, il est estimé qu'un enfant obèse coûte 81$ de plus au système de santé annuellement comparativement à un enfant d'IMC normal, alors que le coût annuel d'un programme de prévention serait de 23$ par enfant (Tran *et al.*, 2013). Considérant les coûts présents et futurs imputables

à un individu obèse, la prévention se présente comme la solution la plus efficace à ce problème complexe. Une meilleure compréhension des premiers mécanismes menant à l'obésité en bas âge demeure toutefois essentielle au développement de nouvelles interventions.

3.2 Les diètes riches en lipides

Selon le *Guide Alimentaire Canadien*, la proportion de lipides devant être ingérée dans une saine alimentation devrait se situer entre 20% et 35% des macronutriments pour les adultes, entre 25% et 35% pour les enfants et adolescents âgés de 4 à 18 ans et entre 30% et 40% pour les enfants de 3 ans et moins. En moyenne, la diète de la population adulte américaine (Zhang, R. *et al.*, 2015) et canadienne (Jessri *et al.*, 2015) respecte ces pourcentages. Bien que les diètes riches en lipides gagnent en popularité comme traitement contre l'obésité, leurs effets bénéfiques à long terme ne sont pas démontrés (Brouns, 2018). De plus, les adultes souffrant d'embonpoint et d'obésité ont une alimentation proportionnellement plus riche en lipides (Raatz *et al.*, 2017). Tel que vu dans les sections précédentes, ces mauvaises habitudes alimentaires débutent souvent dès le jeune âge. De fait, les enfants et adolescents canadiens consomment en moyenne de 23% à 31% de leurs calories provenant d'aliments riches en sucres ou en gras non recommandés par le *Guide Alimentaire Canadien* (Jessri *et al.*, 2016).

D'autre part, la provenance et la composition des lipides ingérés revêt une importance majeure. Les acides gras saturés, provenant principalement de sources animales, sont considérés plus nocifs pour la santé cardiovasculaire (Flock *et al.*, 2014) et plus obésogènes (Phillips *et al.*, 2012). Au niveau métabolique, la saturation des acides gras affecte leur β-oxydation. Par exemple, un acide gras saturé tel que l'acide

palmitique (16:0) sera oxydé moins rapidement qu'un acide gras monoinsaturé tel que l'acide oléique (18:1 n-9), ce qui cause une dépense calorique moins élevée (Kien *et al.*, 2005). La longueur de l'acide gras saturé ou insaturé affecte aussi la vitesse à laquelle il est oxydé (Leyton *et al.*, 1987). Il a été démontré qu'une substitution des acides gras saturés pour des acides gras monoinsaturés (Liu, X. *et al.*, 2016) ou polyinsaturés (Summers *et al.*, 2002) dans la diète d'individus obèses réduit significativement leur masse adipeuse (Piers *et al.*, 2003) et ce sans diminution de leur apport calorique total. Ces études, comme plusieurs autres, réfutent le mythe « une calorie est une calorie » qui persiste encore aujourd'hui (Feinman et Fine, 2004).

Depuis les 25 dernières années, la consommation moyenne de gras saturés chez les Canadiens est demeurée stable, constituant environ 10% de l'apport en macronutriments (Micha *et al.*, 2014). Toutefois, le Canada est un des pays où l'on consomme le plus de gras *trans* quotidiennement (Wanders *et al.*, 2017). Bien qu'ils puissent provenir de sources animales (Hartman *et al.*, 1955), la grande majorité des gras *trans* consommés sont produits de façon industrielle par l'hydrogénation partielle de gras *cis*-insaturés liquides de source végétale. De par leur effet modulatoire sur la concentration sanguine de lipoprotéines à haute et basse densité, la consommation de gras *trans* constitue un risque majeur de maladies cardiovasculaires (Iqbal, 2014). De fait, la consommation d'acides gras *trans* de source industrielle est associée positivement aux mortalités causées par les maladies cardiovasculaires et coronariennes (de Souza *et al.*, 2015). Ces conséquences néfastes ont incité plusieurs pays à bannir ces gras de l'industrie alimentaire (Benac, 2014). Avec cette disparition progressive des gras *trans*, le focus est de nouveau sur la diminution de la consommation de gras saturés, tant chez les adultes (Hooper *et al.*, 2015) que chez les enfants (Te Morenga et Montez, 2017).

3.2.1 Le modèle animal

L'étude des effets d'une diète riche en lipides sur une population humaine est de caractère majoritairement épidémiologique. De plus, une proportion importante des études cliniques sur le sujet ont pour objectif d'observer les effets aigus d'un ou de plusieurs repas sur différents paramètres physiologiques, dont la concentration de glucose sanguin (Gannon *et al.*, 1993), la sensibilité à l'insuline (Robertson *et al.*, 2002), l'absorption des acides gras dans différents tissus (Votruba *et al.*, 2007), l'appétit (Silberbauer *et al.*, 1998) ainsi que le quotient respiratoire et la thermogénèse (Maffeis *et al.*, 2001). Quelques études ont cependant pu étudier les effets à moyen-terme d'une diète riche en lipides (Tam *et al.*, 2010). Certains protocoles se prolongent jusqu'à 8 semaines (Votruba et Jensen, 2011), et ce même chez les enfants et les adolescents (Treuth *et al.*, 2003). Toutefois, les difficultés au point de vue éthique ainsi que dans la recherche, l'adhésion et le suivi des participants résultent en une faible faisabilité. D'autres limitations telles les données auto-rapportées par les participants pouvant manquer de précision (Hebert *et al.*, 2003), les différences physiologiques inter-individus, les niveaux variant de stress et d'activité physique ainsi que la durée relativement courte des protocoles rendent l'étude des mécanismes menant à l'obésité dans un modèle humain difficile.

Les diètes à haute teneur en lipides sont utilisées depuis plus de 60 ans dans un modèle animal et leurs propriétés obésogènes ont vite été démontrées (Peckham *et al.*, 1962). Ces diètes sont donc couramment utilisées dans la recherche sur l'obésité (Speakman *et al.*, 2007), le plus souvent chez des souris et des rats. Ces derniers sont d'ailleurs utilisés depuis plusieurs décennies, notamment dans la recherche sur le diabète et la résistance à l'insuline (Budohoski *et al.*, 1993), une branche de la recherche dans laquelle le modèle animal se révèle indispensable (King, 2012). Toutefois, outre la souche animale, plusieurs paramètres peuvent varier lors de l'utilisation de ce modèle, telle la provenance ou le type de lipides utilisés, le

pourcentage de l'apport calorique représenté par ceux-ci, la composition de la diète contrôle ainsi que la durée du protocole. Lai *et al.* proposent un tableau résumant ces variations (Lai *et al.*, 2014) (Figure 3.2).

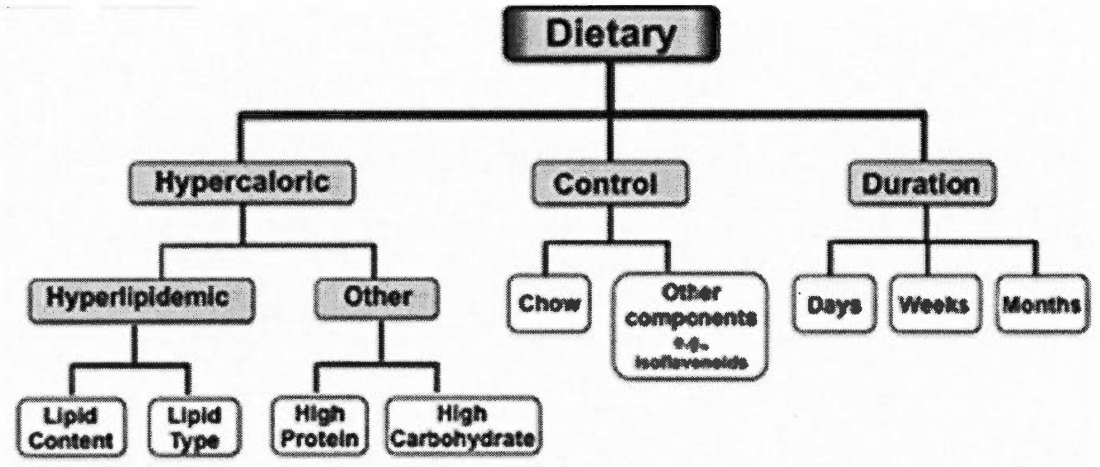


Figure 3.2 : Facteurs variables d'un protocole d'obésité induite par la diète

Plusieurs souches de souris sont utilisées dans la recherche sur l'obésité. Les souris de souche C57/BL6, 129X1, DBA/2 et FVB/N sont toutes à risque de développer de l'obésité, à des niveaux variables, lorsque soumises à des diètes riches en lipides (Montgomery *et al.*, 2013). D'autres souches, comme les BALB/C, peuvent toutefois se montrer résistantes à l'obésité (Boi *et al.*, 2016). Chez les rats, les différences de gain de poids, selon la souche, en réponse à une même diète sont connues depuis les années 1970 (Schemmel *et al.*, 1970). Ainsi, les rats de souche Lewis (Schmiedt *et al.*, 2011), Long-Evans (Woods *et al.*, 2003) et Fischer 344 (Levy *et al.*, 2004) sont communément utilisés en recherche sur l'obésité. Certaines autres souches, telles les rats Zucker (fa/fa) (Kurtz *et al.*, 1989) ou Otsuka Long-Evans Tokushima (Kawano *et al.*, 1994; Schroeder *et al.*, 2009), ont des prédispositions génétiques au

développement de l'obésité, peu importe la diète. Toutefois, le modèle de l'obésité induite par la diète tend à mieux reproduire l'obésité humaine et devrait donc être priorisé dans l'étude des mécanismes obésogènes (Lutz et Woods, 2012).

De nombreux facteurs pourraient expliquer pourquoi certaines souches de rats sont susceptibles à l'obésité, alors que d'autres y sont résistantes. L'accumulation accrue de masse adipeuse chez les rats susceptibles à l'obésité pourrait être due, entre autres, à une expression accrue du neuropeptide Y (Beck, 2006) qui favoriserait la consommation plus importante de calories observée chez ces souches (Chang, S. *et al.*, 1990). D'autre part, ces animaux auraient aussi une meilleure capacité de stockage de l'énergie (Levin et Dunn-Meynell, 2000), une oxydation des lipides moins efficace (Jackman *et al.*, 2010) ainsi qu'une activité de l'enzyme lipoprotéine lipase réduite dans les tissus adipeux (Jackman *et al.*, 2006). Les deux lignées de rats les plus utilisés pour ce type de recherche sont les Sprague-Dawley et Wistar. Lorsque soumis à la même diète riche en lipides, on observe chez ces deux lignées, par rapport à une diète contrôle, une augmentation du poids corporel, de la masse adipeuse, de la taille des adipocytes mésentériques ainsi qu'une hyperglycémie induite *per os* et des taux sanguins d'adiponectine et de leptine accrus (Marques *et al.*, 2015). Toutefois, tous ces changements sont plus importants ou apparaissent plus tôt chez le rat Wistar, ce qui en fait une lignée idéale pour la recherche sur l'obésité induite par la diète à court terme.

L'âge et le sexe des animaux influencent aussi leurs adaptations physiologiques à la diète. Le poids des rats mâles augmente beaucoup plus rapidement que celui des femelles au début de l'âge adulte, qui se situe aux alentours de 8 semaines, et demeure plus élevé tout au long de sa vie adulte (Kwekel *et al.*, 2010). Par contre, il semble que les rats femelles soient plus susceptibles à l'obésité induite par une diète en très bas âge (Rodriguez *et al.*, 2001). Vers la cinquième semaine de vie, les rats atteignent le stage de la puberté (Sengupta, 2013) qui se manifeste, entre autres, chez

le rat femelle, par l'apparition d'oestrus suivant un cycle de 4 ou 5 jours (Westwood, 2008). Étant données les variations de consommation de nourriture et de poids corporel changeant selon la phase du cycle d'oestrus (ter Haar, 1972), la majorité des recherches sur l'obésité préconisent l'utilisation du rat mâle (Giles *et al.*, 2016). Par ailleurs, les jeunes rats seraient plus susceptibles à l'obésité que des rats adultes ou âgés lorsque nourris d'une diète obésogène (Erdos *et al.*, 2011). Il a été démontré que des rats âgés de 4 semaines au début d'un protocole montrent des accumulations de gras viscéral plus importantes après 13 semaines de diète obésogène que des rats âgés de 12 semaines au début du même protocole (de Castro *et al.*, 2013). Dans un protocole de 8 semaines sur des rats âgés de 3 semaines, il est possible d'observer certains symptômes du syndrome métabolique, tels un poids corporel, une masse adipeuse abdominale et un taux de glucose sanguin à jeun plus élevés ainsi que l'apparition plus rapide d'hypertension, comparativement à des rats adultes (Cheng *et al.*, 2017). L'utilisation de jeunes rats serait donc idéale dans l'étude des effets à court terme d'une diète obésogène, puisqu'ils apparaissent plus rapidement et de façon plus prononcée à ce stade du développement.

Tel que mentionné précédemment, le type d'acide gras se trouvant dans une diète influence grandement la qualité obésogène de cette dernière, et ce indépendamment de sa charge calorique théorique (Silva *et al.*, 2006). Ainsi, les acides gras saturés sont généralement plus obésogènes que les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (Hariri *et al.*, 2010; Wang, H. *et al.*, 2002). Ces derniers sont oxydés plus rapidement que les acides gras saturés (Leyton *et al.*, 1987), qui eux sont plus facilement stockés sous forme de diglycéride, de triglycéride ou de céramide (Gaster *et al.*, 2005). Les gras insaturés stimulent aussi la thermogénèse postprandiale de façon plus importante que les gras saturés (Casas-Agustench *et al.*, 2009). Bien qu'elle soit disputée (Strik *et al.*, 2010), une autre hypothèse avance que les gras polyinsaturés causent une plus grande satiété (Lawton *et al.*, 2000) en diminuant notamment l'activité de la ghréline et en augmentant celle du peptide YY (Stevenson *et al.*, 2015).

Les diètes obésogènes à base de lard semblent être celles causant un gain de poids le plus important, bien que le pourcentage de gras saturés de cette source animale soit d'environ 40% (Buettner *et al.*, 2007). En comparaison, l'huile de noix de coco, une source de gras végétal contenant environ 90% de gras saturés, est moins obésogène que le lard et que l'huile de soja, qui elle contient 14% de gras saturés (Deol *et al.*, 2015). Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces phénomènes. L'huile de coco est composée majoritairement d'acide laurique (12:0), alors que le lard est composé d'acides gras à plus longues chaînes, tels l'acide palmitique (16:0) et l'acide stéarique (18:0). Plus l'acide gras est long, moins il sera oxydé par l'organisme, qui favorisera plutôt son stockage (DeLany *et al.*, 2000). En effet, il est possible d'observer une adiposité plus importante chez des rats soumis à une diète contenant des triglycérides à longue chaîne comparativement à des rats soumis à une diète de triglycérides à chaîne moyenne (Takeuchi *et al.*, 2006).

D'autre part, il a été démontré qu'une consommation excessive d'acide linoléique, tel que contenu dans l'huile de soja, induit l'obésité de par sa conversion en acide arachidonique, qui lui agit sur les endocannabinoïdes 2-arachidonylglycérol et anandamide jouant un rôle dans la régulation de l'appétit (Alvheim *et al.*, 2012). La préférence des rats pour le goût de l'acide linoléique (Mizushige *et al.*, 2007) pourrait expliquer pourquoi une diète à base de lard (± 11% acide linoléique) s'est montrée plus obésogène qu'une diète à base d'huile végétale hydrogénée (± 4% acide linoléique) ayant la même charge calorique et la même quantité d'acide gras saturés (Kubant *et al.*, 2015). Toutefois, il n'en va pas de même pour l'acide linoléique conjugué, dans lequel une paire ou plus de liaisons doubles est séparée par une seule liaison simple. Illustrant l'importance de la configuration des liaisons doubles de carbone, l'acide linoléique conjugué peut prévenir l'obésité de par son influence potentielle sur le métabolisme énergétique, le métabolisme des lipides, l'adipogénèse, l'inflammation, l'apoptose adipocytaire, la lipolyse, la lipogénèse, la thermogénèse

ainsi que le remodelage de tissus adipeux blancs en tissus adipeux bruns (Shen, W. et McIntosh, 2016).

Un autre facteur influençant les effets d'un acide gras polyinsaturé est la position de sa double liaison terminale. Les acides gras polyinsaturés n-3, ou Omega-3, sont considérés anti-obésogènes de par leur activité anti-inhibitoire de GLUT4 et de PI3 kinase dans le muscle, par leur effet inhibitoire sur l'expression de certaines enzymes impliquées dans la lipogénèse, ainsi que par leur effet stimulant sur l'oxydation des lipides dans le foie via l'activation de PPAR-α (Delarue *et al.*, 2004). Les acides gras n-3 régulent donc la différentiation adipocytaire, le stockage des lipides et l'inflammation à la baisse, tout en stimulant la dépense énergétique (Huang, C. W. *et al.*, 2016). Ainsi, lorsque des rats sont soumis à une diète riche en lipides composée d'huile de poisson, riche en acides gras polyinsaturés ω-3, ils montrent un poids similaire (Holness *et al.*, 2003) ou inférieur (Levy *et al.*, 2004) au groupe contrôle, sans développer de résistance à l'insuline, un effet observable d'une diète riche en lipides contenant des acides gras d'autres sources, telles le lard ou l'huile de carthame riche en acide linoléique ω-6 (Buettner *et al.*, 2007).

Ces acides gras polyinsaturés ω-6, ou Omega-6, sont ceux retrouvés en plus grande quantité dans la diète nord-américaine, mais aussi dans la diète animale industrielle « chow » de rongeurs, en proportion de 20:1 (O'Connell *et al.*, 2013). Alors que l'acide eicosapentaénoïque (EPA; ω-3) produit la prostaglandine E3 et le leucotriène B5, l'acide arachidonique (ω-6) est à l'origine des mêmes produits sous leur forme E2 et B4, qui favorisent la thrombose et l'inflammation (Simopoulos, 2008). La prostaglandine E2 inhibe aussi le remodelage de tissus adipeux blancs en tissus adipeux bruns (Banni et Di Marzo, 2010) impliqués dans la thermogénèse. En plus de stimuler la signalisation du système endocannabinoïde (Matias et Di Marzo, 2007), l'acide arachidonique est aussi impliqué dans le processus de différentiation adipocytaire (Gaillard *et al.*, 1989) en plus de compromettre la signalisation de la

leptine (Cheng, L. *et al.*, 2015). Par contre, ces effets peuvent être atténués par un apport suffisant en acides gras n-3 (Schmitz et Ecker, 2008), ce qui souligne l'importance du ratio n-6/n-3 dans la diète (Lands, B., 2014).

Bien qu'ils ne soient pas essentiels, les acides gras ω-9, ou Omega-9, se retrouvent dans plusieurs sources alimentaires telles l'huile d'olive, l'huile de canola et le beurre, majoritairement sous forme d'acide oléique. De récentes études ont démontré qu'une diète riche en acide oléique pouvait aider à réduire l'obésité ainsi que la masse adipeuse abdominale (Kien et Bunn, 2008; Liu, X. *et al.*, 2016) en stimulant l'oxydation des acides gras par l'activation de PPAR-δ (Ravnskjaer *et al.*, 2010). Un dérivé de l'acide oléique, l'oleoylethanolamine, démontre des propriétés anorexigènes (Bowen *et al.*, 2017) et stimule la lipolyse par l'activation de PPAR-α (Fu *et al.*, 2003). De plus, l'effet anorexigène de l'acide oléique pourrait être causé centralement par son effet inhibiteur sur l'expression hypothalamique du neuropeptide Y (Obici *et al.*, 2002). Dans les adipocytes, l'acide oléique peut augmenter l'expression de l'adiponectine, une hormone qui participe à la dégradation des céramides, activant ainsi l'AMPK qui stimule l'oxydation des acides gras (Holland *et al.*, 2011). Les différents effets, parfois opposés, des nombreuses formes de gras saturés et insaturés variant de longueur et de configuration illustrent leur influence sur les mécanismes menant à l'obésité. Le choix du type d'acides gras utilisé dans une diète obésogène revêt donc une grande importance.

Une diète peut être considérée à haute teneur en gras lorsque le pourcentage des calories provenant des lipides atteint 30% (Harris et Kor, 1992). Étant donné le faible pourcentage de lipides se retrouvant dans les diètes « chow », soit de 5 à 10% selon les formulations, une diète contenant aussi peu que 13% des calories provenant des lipides peut induire un gain de poids significatif sur une longue période (Harrold *et al.*, 2000). Une grande quantité d'études sur des rats Wistar utilisent toutefois des diètes contenant environ 60% des calories provenant des lipides (Briaud *et al.*, 2002;

Chalkley *et al.*, 2002; Oakes *et al.*, 1997; Rezende Yanagihara *et al.*, 2017; Taouis *et al.*, 2002; Yaspelkis *et al.*, 2001). Les diètes contenant une proportion de lipides plus importante que 60% sont rarement utilisées puisqu'elles sont souvent considérées comme étant « extrêmes » (Ahmed *et al.*, 2009; de Souza *et al.*, 2008), n'entrant pas dans les normes acceptables d'une diète humaine.

L'effet obésogène à court terme d'une diète, chez les rongeurs, est directement relié à sa densité calorique. Un gramme de lipides contient, selon le système Atwater, 9 calories; sa densité calorique est 2,25 fois plus importante que celle d'un gramme de glucide ou de protéine, qui contiennent chacun 4 calories. Il a été démontré que les rats ingèrent, peu importe la diète, le même poids de nourriture quotidiennement (Ramirez et Friedman, 1990), ce qui résulte en une plus grande consommation de calories chez les rats soumis à une diète riche en lipides. Cette consommation équivalente en poids de nourriture soulève aussi un problème lorsqu'une diète « chow » enrichie en gras est utilisée. Effectivement, les animaux consomment plus de lipides, mais moins de protéines et de micronutriments puisque le « chow » est mélangé à la source supplémentaire de lipides. De ce fait, plusieurs compagnies, telles Research Diets et Teklad (Envigo), offrent des diètes obésogènes formulées spécifiquement pour offrir une quantité suffisante de micronutriments et de protéines. Considérant que les protéines peuvent avoir un effet anti-obésogène (Halton et Hu, 2004) même en présence d'une grande quantité de lipides (Pichon *et al.*, 2006), le pourcentage des calories provenant des protéines dans la diète obésogène se doit d'être similaire à celui de la diète contrôle. L'augmentation de l'apport relatif en lipides, dans une diète obésogène, se traduit donc par une diminution de l'apport relatif en glucides.

Tout dépendant de l'étude et des effets désirés, un protocole de diète obésogène peut être aussi court que deux semaines ou durer pendant la vie entière de l'animal (Iwasa *et al.*, 2018). Habituellement, chez les rats, un gain de poids significatif est

observable après environ quatre semaines de diète riche en lipides (Ramirez et Friedman, 1990; Suk et Shin, 2015). Plus le protocole est long, plus le pourcentage de différence de poids corporel, comparativement au groupe contrôle, sera élevé (Marques *et al.*, 2015) (Figure 3.3). Ainsi, il est possible d'observer un gain de poids jusqu'à 30% supérieur chez des rats Wistar après un protocole de 300 jours (Chalkley *et al.*, 2002). Toutefois, il est important de noter que le pourcentage d'adiposité, chez les rats de la même étude, est de 60% supérieur au groupe contrôle. D'autres études confirment d'ailleurs l'augmentation plus rapide de l'adiposité, comparativement au poids corporel, chez les rats (Schmiedt *et al.*, 2011; Woods *et al.*, 2003), ce qui souligne la présence de nombreux changements métaboliques précédant une augmentation de poids significative.

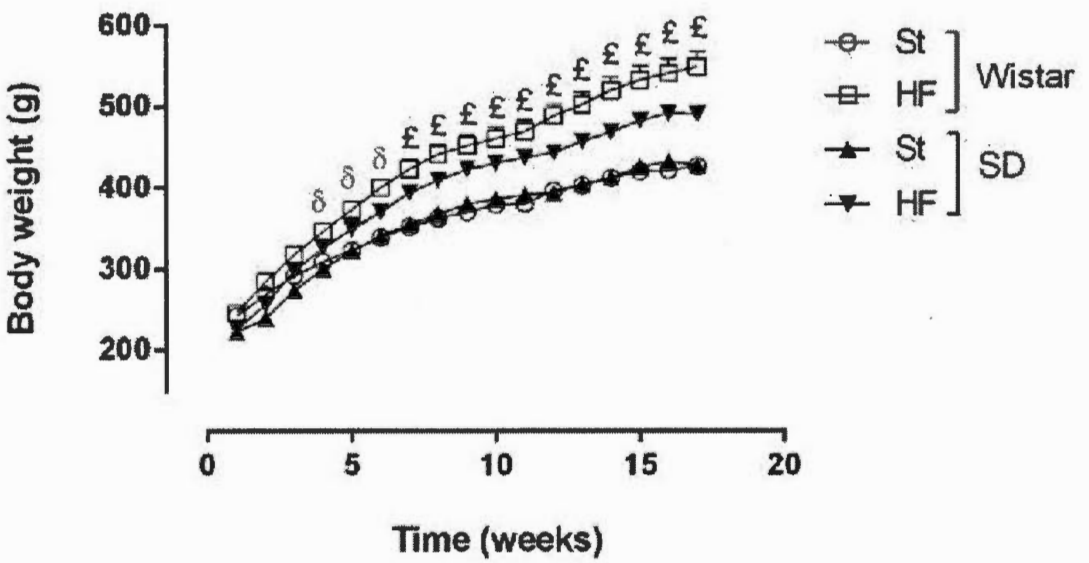


Figure 3.3 : Évolution du poids de rats soumis à une diète riche en lipides

Plusieurs changements métaboliques sont aussi observables chez les rats après seulement deux semaines de diète obésogène. En plus d'observer une adiposité plus élevée, Song *et al.* ont aussi démontré une production endogène de glucose et une néoglucogenèse augmentée chez des rats Wistar (Song, S. *et al.*, 2001). Une autre étude a pu observer des taux significativement plus élevés de glucose plasmatique, d'insuline, de triglycérides et de cholestérol total chez des rats Sprague-Dawley (Srinivasan *et al.*, 2005). Reed *et al.* ont pu observer des résultats similaires (Reed *et al.*, 2000), ce qui tend à démontrer l'apparition rapide de mécanismes menant à la résistance à l'insuline (Ahren *et al.*, 1999). De plus, deux semaines de diète riche en lipides semblent suffisantes pour altérer certains mécanismes centraux et périphériques régulant l'appétit et de la satiété (Primeaux *et al.*, 2013; Schaffhauser *et al.*, 2002). Ces mécanismes, importants dans le développement de l'obésité, seront explorés plus en détail dans la section suivante.

3.2.2 Les effets d'une diète riche en lipides

Tel qu'abordé brièvement dans la section précédente, les diètes riches en lipides ont plusieurs effets métaboliques, souvent délétères. Un de ces effets est l'altération de certains mécanismes régulant l'appétit et la satiété. De plus, il semble y avoir un lien entre les diètes obésogènes et les niveaux d'activité physique et de sommeil, deux facteurs aussi impliqués dans le développement de l'obésité. Les effets sur le muscle squelettique et sur les réactions d'oxydoréduction seront abordés plus spécifiquement dans des sections subséquentes.

Le système gastrointestinal contient des neurones sensitifs vagaux responsables de mesurer le volume de l'estomac et le contenu des intestins (Brookes *et al.*, 2013). Il a été démontré que la distension abdominale stimule ces nerfs se rendant au système nerveux central dans l'amygdale et le cortex insulaire gauches (Wang, G. J. *et al.*,

2008). Ces deux zones, plus précisément la portion basolatérale de l'amygdale et la portion antérieure gustatoire du cortex insulaire, sont directement impliquées dans le contrôle de la satiété (Parkes et Balleine, 2013). La sensation physique d'un estomac plein est un des critères de cessation d'un repas chez les humains (Tuomisto *et al.*, 1998) et le niveau de distension gastrique est directement corrélé négativement à la consommation de nourriture (Geliebter, 1988). Le même phénomène est observable lorsqu'une distension gastrique est induite artificiellement, sans apport nutritionnel, chez des rats (Hargrave et Kinzig, 2012). Comparativement à un repas « régulier », la densité calorique d'un repas riche en lipides est plus élevée et son volume, pour un nombre équivalent de calories, sera plus faible (Rolls *et al.*, 1998). Un repas moins volumineux cause une distension gastrique moins importante, donc un effet de satiété réduit (Serisier *et al.*, 2014).

Au niveau central, le noyau arqué de l'hypothalamus est une des régions principales régulant l'appétit. La pro-opiomélanocortine (POMC) est un précurseur protéique qui réagit à la leptine dans l'hypothalamus (Cheung *et al.*, 1997). En stimulant la production d'hormones peptidiques mélanocortines, la POMC exerce un effet inhibiteur sur la consommation de nourriture (Zemel et Shi, 2000). Une altération dans la régulation de POMC serait une des causes menant à l'obésité causée par la diète (Souza *et al.*, 2016). En effet, il a été démontré qu'une diète riche en lipides diminue l'activité des neurones POMC, via une altération de la gestion du calcium, chez des souris (PaegerPippow *et al.*, 2017). La diète riche en lipides peut aussi causer une hyperméthylation du gène de POMC, ce qui engendrerait une baisse de sensibilité à la leptine (Marco *et al.*, 2013). L'expression de POMC est diminuée, après 21 semaines, chez des rats nourris d'une diète contenant 45% des calories provenant de lipides (Cifani *et al.*, 2015) De plus, l'expression de POMC chez des rats nouveau-nés de parents nourris d'une diète riche en lipides est aussi diminuée et ne revient pas au niveau basal même lorsqu'ils sont soumis à une diète « chow »

après la période d'allaitement (Marco *et al.*, 2014), ce qui démontre un effet à long terme et potentiellement irréversible.

Le contrôle de l'appétit et de la satiété au niveau central est largement dépendant de la balance entre les neurones POMC et leurs antagonistes NPY et AgRP (*agouti-related peptide*) (PaegerKarakasilioti *et al.*, 2017). Ces peptides orexigènes jouent un rôle crucial dans l'appétit et l'apport alimentaire (Gropp *et al.*, 2005). Il a été démontré que la stimulation extrinsèque de ces neurones résulte en une rapide augmentation de l'apport alimentaire sans inhiber le système de mélanocortines (Aponte *et al.*, 2011). Par contre, l'axe AgRP/NPY peut contrebalancer une hausse de la leptine, observable chez des individus âgés, en inhibant les neurones POMC (Newton *et al.*, 2013), ce qui démontre une interaction complexe entre les deux systèmes. Il a été démontré qu'une diète riche en lipides, indépendamment de l'apport calorique, augmente la stimulation des neurones AgRP/NPY chez les souris (Wei *et al.*, 2015). À l'inverse, une stimulation extrinsèque du AgRP cause une augmentation de l'apport alimentaire, mais aussi une préférence pour une diète riche en lipides (Hagan *et al.*, 2001). Cette diète, lorsqu'administrée sur une longue période, peut même induire de l'inflammation au niveau hypothalamique et altérer l'expression des neurones AgRP/NPY chez des souris (Dalvi *et al.*, 2017). Il est aussi possible d'observer une expression accrue de AgRP/NPY chez des jeunes rats soumis à une diète riche en lipides (Stofkova *et al.*, 2009). De plus, l'expression de AgRP/NPY est augmentée dans des fœtus à terme de rats dont les mères sont nourries d'une diète riche en lipides (Gupta *et al.*, 2009).

Au niveau périphérique, plusieurs signaux hormonaux afférents régulent l'appétit et la satiété. Ces hormones sont produites dans différents organes du système digestif tels l'estomac, l'intestin et le pancréas, mais aussi dans les tissus adipeux (Coll *et al.*, 2007). Les incrétines sont des hormones, sécrétées majoritairement après un repas, dont les rôles principaux sont la régulation de la glycémie et le ralentissement de la

vidange gastrique. Les principales incrétines, sécrétées par l'intestin, sont le GLP-1 et le peptide insulinotrope dépendant du glucose (GIP) (Kazafeos, 2011). Il a été démontré que GLP-1 joue aussi un rôle dans le mécanisme de satiété (Williams *et al.*, 2009). En effet, des infusions périphériques (Chelikani *et al.*, 2005) et centrales (Turton *et al.*, 1996) de GLP-1 peuvent diminuer la prise alimentaire par des mécanismes complexes demeurant en partie non élucidés (Shah et Vella, 2014). Bien que certaines études n'aient pu le démontrer (Edholm *et al.*, 2010), GIP semble aussi jouer un rôle dans le contrôle de l'appétit au niveau central (Seino *et al.*, 2010). Il a été suggéré qu'une forte proportion de lipides alimentaires pourrait altérer la rythmicité de la sécrétion de GLP-1 (Gil-Lozano *et al.*, 2016). Chez des souris, l'expression de GLP-1 était réduite après 16 semaines de diète riche en lipides, altérant ainsi leur efficacité (Richards *et al.*, 2016). Des résultats similaires ont pu être observés chez des rats Sprague Dawley (Zheng *et al.*, 2017). Il semble que l'expression du récepteur de GLP-1 puisse aussi être modulée par la teneur en lipides d'une diète (Mul *et al.*, 2013). Pour sa part, GIP est impliqué dans le développement des tissus adipeux et pourrait jouer un rôle important dans la genèse de l'obésité (Song, D. H. *et al.*, 2007). Les niveaux de GIP augmentent de façon aiguë en réponse à une consommation de lipides (Brons *et al.*, 2009), mais son expression est aussi augmentée de façon chronique après plusieurs semaines de diète obésogène (Yamane *et al.*, 2016).

La sécrétion, majoritairement dans le petit intestin, de l'apolipoprotéine A-IV (apoA-IV) est aussi stimulée par la consommation de lipides et agit comme signal de satiété (Fujimoto *et al.*, 1992). Il a été démontré que l'administration aiguë d'apoA-IV cause la satiété à court terme chez des rats (Lo *et al.*, 2007). Toutefois, l'administration à long terme d'une diète riche en lipides diminue l'expression hypothalamique d'apoA-IV et inhibe son effet de satiété (Liu, M. *et al.*, 2004; Woods *et al.*, 2004). De façon similaire, la sécrétion de CCK dans le duodénum est stimulée par l'ingestion de lipides (Gibbons *et al.*, 2016). Cette hormone, qui a pour rôle principal d'inhiber la

vidange gastrique, est aussi un contributeur majeur dans le signal de satiété (Moran, 2000). Son action, rapide mais brève, passe par la signalisation d'un récepteur spécifique abondant sur les fibres afférentes du nerf vagal (Moran et Kinzig, 2004). Une recherche sur des souris *knockout* n'exprimant pas la récepteur de CCK a démontré le rôle important joué par cette hormone en réponse à l'ingestion aiguë de lipides (Donovan *et al.*, 2007). Chez des rats, il a été démontré qu'une diète riche en lipides nuit à l'inhibition de la vidange gastrique causée par CCK (Covasa et Ritter, 2000). La signalisation de CCK ainsi que l'expression de son récepteur est aussi altérée chez des rats prédisposés à l'obésité (DucaZhong *et al.*, 2013). Cette sous-expression du récepteur pourrait expliquer pourquoi des rats soumis à une diète riche en lipides ont une sensibilité réduite à CCK (Covasa et Ritter, 1998) ainsi qu'une réponse vagale diminuée (Covasa *et al.*, 2000).

Toujours dans l'intestin, majoritairement dans l'iléon et le gros intestin, la sécrétion de PYY exerce un rôle similaire. Par contre, contrairement à CKK, la sécrétion de PYY est maximale après l'ingestion de protéines (Batterham *et al.*, 2006). Son rôle dans la satiété, par l'entremise du nerf vague, a aussi été démontré (Koda *et al.*, 2005), tout comme son action centrale dans le noyau arqué de l'hypothalamus (Batterham *et al.*, 2002). Son administration endogène pourrait de plus stimuler l'oxydation des lipides chez des souris soumises à une diète obésogène (Adams *et al.*, 2006). Il a été suggéré que la sécrétion de PYY pourrait être diminuée chez des souris soumises à une diète riche en lipides (le Roux *et al.*, 2006). Il semble aussi qu'une diète obésogène puisse altérer la sécrétion circadienne de PYY (Moghadam *et al.*, 2017). Chez des rats, une diminution de l'expression de PYY est accompagnée d'une diminution de l'expression de GLP-1 et de CKK suite à 10 semaines de diète obésogène (DucaSwartz *et al.*, 2013). L'effet inhibitoire d'une diète riche en lipides sur les taux plasmatiques de PYY de rats Wistar pourrait toutefois être diminué par un entrainement en endurance (Haghshenas *et al.*, 2014).

Chez les rongeurs, la résistine est sécrétée par les tisseus adipeux et contribue à l'obésité, à la résistance à l'insuline et au diabète (Kusminski *et al.*, 2005). Toutefois, chez l'humain, cette hormone peptidique n'est pas considérée comme une adipokine et son effet sur la sensibilité à l'insuline et sur le développement de troubles métaboliques demeure nébuleux (Arner, 2005; Utzschneider *et al.*, 2005). À l'inverse, l'adiponectine est sérétée dans les tissus adipeux des humains et des rongeurs et démontre des propriétés anti-hyperglycmiques et anti-inflammatoires importantes dans la régulation du métabolisme et la prévention de l'obésité (Nigro *et al.*, 2014). Toutefois, il a été démontré que l'adiponectine pouvait augmenter l'appétit en activant l'AMPK hypothalamique, qui stimule par la suite l'axe AgRP/NPY (Kubota *et al.*, 2007). Il semble qu'une diète riche en lipides diminue toutefois la concentration plasmatique d'adiponectine (Chaolu *et al.*, 2011) ainsi que son expression dans certains tissus (Barnea *et al.*, 2006), dont les tissus adipeux blancs de souris (Landrier *et al.*, 2017). Le rôle de l'adiponectine est aussi important dans le maintien de la sensibilité à l'insuline lors de l'administration d'une diète obésogène (Liu, Y. *et al.*, 2015).

Sécrétée par plusieurs tissus, mais majoritairement par les tissus adipeux blancs, la leptine est considérée comme la principale hormone anorexigène (Farr *et al.*, 2015). Son rôle central, dans le noyau arqué de l'hypothalamus, consiste à inhiber les neurones AgRP/NPY et à stimuler les neurones POMC (Cowley *et al.*, 2001). Puisque les taux de leptine sont corrélés avec le pourcentage de masse adipeuse, il est possible d'observer des taux de leptine plus élevés chez des individus obèses (Considine *et al.*, 1996). Ce phénomène peut s'expliquer par une cascade d'évènements. Premièrement, il a été démontré qu'un repas riche en lipides ne stimule pas autant la production de leptine qu'un repas isocalorique riche en glucides (Romon *et al.*, 2003; Romon *et al.*, 1999). Toutefois, une diète riche en lipides peut causer une hyperleptinémie, indépendamment de la taille des adipocytes chez des rats femelles (Roberts, C. K. *et al.*, 2002). Chez des rats Sprague-Dawley mâles, une

hyperleptinémie apparait après seulement 24 heures de diète riche en lipides et augmente progressivement durant 10 semaines (Lee, Y. *et al.*, 2001). Il a été proposé que, malgré des taux plus élevés de leptine, l'altération des autres signaux de satiété jumelée à la densité calorique des lipides et à leur effet sur le système central de récompense était suffisant pour induire l'obésité (Myers *et al.*, 2010).

De plus, il semble qu'une diète obésogène chronique induit une résistance à la leptine (Enriori *et al.*, 2007), ce qui pourrait aussi expliquer les taux élevés observés chez les individus obèses. Le fait qu'une administration extrinsèque de leptine ne cause pas, chez des rats nourris d'une diète obésogène, la même diminution de la consommation de nourriture observée chez des rats contrôle tend à confirmer cette hypothèse (Fam *et al.*, 2007). Chez de jeunes rats Sprague-Dawley, 10 jours d'une diète riche en lipides suffisent à diminuer significativement l'expression du récepteur de la leptine dans le noyau arqué de l'hypothalamus (Levin *et al.*, 2003). Des résultats similaires ont été observés chez des hamsters après 3 semaines de diète riche en lipides (Zhao *et al.*, 2018). Chez des souris transgéniques ne produisant pas de leptine, la diète riche en lipides induit aussi une résistance à la leptine comparativement au groupe contrôle nourri d'une diète faible en lipides, et ce en l'absence d'hyperleptinémie (Koch *et al.*, 2014). Une autre théorie expliquant la résistance à la leptine implique la stimulation de processus inflammatoires dans l'hypothalamus par la diète riche en lipides (de Git et Adan, 2015; Velloso *et al.*, 2008).

Lorsque découverte en 2005, l'obéstatine a été décrite comme une hormone stimulant la satiété et ayant des propriétés anti-obésogènes (Zhang, J. V. *et al.*, 2005). Rapidement, ses effets sur la consommation de nourriture et sur la motilité gastrique ont été mis en doute (Gourcerol et Tache, 2007). En situation de diète obésogène, l'obéstatine peut prévenir la résistance à l'insuline et exerce un effet positif sur sa sécrétion (Granata *et al.*, 2012). Il est possible d'observer des variations significatives des taux d'obéstatine, soit une diminution à la 14^{e} journée et une augmentation à la

21e journée, chez des jeunes rats Wistar allaités par des mères nourries d'une diète obésogène (Slupecka *et al.*, 2016). Toutefois, ces variations restent intimement liées aux taux mesurables de ghréline. En effet, étant donné leur interaction, le ratio ghréline / obéstatine semble un meilleur outil pour l'évaluation de leurs rôles dans le contrôle de la satiété et de l'obésité (Hassouna *et al.*, 2010). Il est possible d'observer des ratios ghréline / obéstatine plus élevés chez des individus obèses (Guo *et al.*, 2007), mais plus faibles chez des individus souffrant d'anorexie (Germain *et al.*, 2009). Une étude récente démontre qu'une administration extrinsèque d'obéstatine peut prévenir l'effet inhibiteur d'une diète riche en lipides sur la sécrétion de ghréline (Khaleel et Abdel-Aleem, 2018). Le rôle physiologique de l'obéstatine demeure toutefois, du moins en partie, à élucider (Trovato *et al.*, 2014).

La ghréline, découverte en 1999 (Kojima *et al.*, 1999), a rapidement été identifiée comme une hormone stimulant l'appétit et une adiposité élevée chez les rats (Tschop *et al.*, 2000). Sécrétée par l'estomac, son effet sur la satiété est central de par la stimulation des neurones AgRP/NPY du noyau arqué de l'hypothalamus (Chen *et al.*, 2004). Les taux de ghréline fluctuent durant la journée et sont à leurs niveaux les plus élevés avant les repas (Cummings *et al.*, 2004), après lesquels ils chutent. Chez les individus obèses, les taux de ghréline à jeun sont toutefois plus faibles et la diminution postprandiale, habituellement observable chez les individus non obèses, est atténuée (le Roux *et al.*, 2005; Shiiya *et al.*, 2002; Tschop *et al.*, 2001). De façon aiguë, il semble qu'un repas à haute teneur en lipides ne cause pas une diminution aussi importante de la ghréline qu'un repas isocalorique à haute teneur en glucides chez des individus obèses (Yang, N. *et al.*, 2009), mais aussi chez des individus non obèses (Monteleone *et al.*, 2003). La présence de la ghréline O-acyltransférase (GOAT), responsable de l'acylation de la ghréline, est nécessaire dans le mécanisme menant à l'obésité induite par une diète riche en lipides (Li, Z. *et al.*, 2016; Wellman et Abizaid, 2015), ce qui souligne le caractère obésogène de la forme acylée de la ghréline. Par contre, la ghréline désacylée pourrait induire des effets centraux opposés

à ceux de la forme acylée (Stevanovic *et al.*, 2014) indépendamment de la présence du récepteur GHSR (Delhanty *et al.*, 2010).

À plus long terme, l'administration d'une diète chronique riche en lipides induit une diminution de la sécrétion de ghréline après 10 semaines chez des rats Sprague-Dawley (Gomez *et al.*, 2012) et après 11 semaines chez des rats Wistar (Handjieva-Darlenska et Boyadjieva, 2009). Cependant, ce même type de diète cause une hausse de l'expression des cellules produisant la préproghréline, le précurseur de la ghréline, dans l'estomac de souris (Francois *et al.*, 2016). Il semble aussi que l'inhibition de la sécrétion de ghréline causée par une diète riche en lipides soit indépendante de l'accumulation corporelle de masse adipeuse (Qi *et al.*, 2008). La sécrétion de la ghréline acylée et désacylée pourrait toutefois dépendre du type d'acide gras ingéré dans la diète obésogène (Lemarie *et al.*, 2015). De plus, une diète riche en lipides causerait une résistance à la ghréline en diminuant la sensibilité de neurones AgRP/NPY et en diminuant l'expression du récepteur de la ghréline (*growth hormone secretatogue receptor*; GHSR) dans l'hypothalamus (Briggs *et al.*, 2010). Cette résistance, causée par une diète obésogène chez des souris, pourrait aussi être induite de façon périphérique via une perte d'efficacité des afférents vagaux (Naznin *et al.*, 2015). L'inflammation observée au niveau hypothalamique serait toutefois réversible, tout comme la résistance à la ghréline, après une perte de poids (Naznin *et al.*, 2018).

Sécrété dans la tête du pancréas, majoritairement après l'ingestion de nourriture, le PP s'est démontré être un polypeptide pouvant réduire l'appétit et l'ingestion de nourriture chez les humains (Batterham *et al.*, 2003; Jesudason *et al.*, 2007). Son interaction avec la leptine et la ghréline, ainsi que son rôle dans la régulation de la balance énergétique, ont aussi été démontrés chez des souris (Asakawa *et al.*, 2003). Un aliment riche en lipides stimule la sécrétion de PP de façon significativement plus importante qu'un aliment faible en lipides durant la phase céphalique (avant

l'ingestion) de la digestion (Crystal et Teff, 2006). Chez des humains, une diète riche en lipides administrée durant 2 jours (McFarlin *et al.*, 2017) ou 5 jours (Brons *et al.*, 2012) cause une hausse significative des taux à jeun de PP. Par contre, chez des enfants obèses, les taux de PP sont significativement plus faibles, mais peuvent revenir à la normale après une perte de poids (Reinehr *et al.*, 2006). Il a aussi été démontré qu'une diète enrichie de lipides pouvait altérer les mécanismes de production de PP chez des souris (Adeghate *et al.*, 2006). Ces résultats suggèrent une diminution de la production de PP en réponse à une diète riche en lipides chronique (Ruipan *et al.*, 2014).

L'amyline, ou polypeptide amyloïde, est pour sa part sécrétée, tout comme l'insuline, par les cellules bêta du pancréas. Produite rapidement après l'ingestion de nourriture, ses taux plasmatiques mesurables sont proportionnels à la quantité de nourriture ingérée (Butler *et al.*, 1990). Il a été démontré qu'elle inhibe la vidange gastrique et diminue l'ingestion de nourriture (Reidelberger *et al.*, 2002). Son effet sur la satiété est central de par sa stimulation de neurones de l'*area postrema* du cerveau postérieur (Lutz, 2005). Il est possible d'observer des taux significativement plus élevés d'amyline chez des rats obèses (Leckstrom *et al.*, 1999). Par contre, une diète riche en lipides n'inhiberait pas la sensibilité à l'amyline ou son effet anorexigène (Boyle *et al.*, 2011; Roth *et al.*, 2006). Une diète riche en lipides pourrait toutefois modifier le ratio insuline / amyline chez des souris (Mulder *et al.*, 2000). Chez des rats dont l'obésité a été induite par la diète, l'amyline peut aider à améliorer une sensibilité à la leptine altérée (Roth *et al.*, 2008). Il semblerait donc que le rôle de l'amyline en situation d'obésité soit dépendant de celui de la leptine, et vice-versa (Trevaskis *et al.*, 2010). Toutefois, chez des rats Sprague-Dawley, cette synergie pourrait être compromise de façon irréversible en cas d'obésité extrême induite par une diète riche en lipides (Trevaskis *et al.*, 2016).

L'insuline, une des principales hormones sécrétées chez les mammifères, a plusieurs fonctions, dont la stimulation de l'absorption du glucose par les tissus périphériques causant une diminution de la concentration de glucose sanguin (Wilcox, 2005). Il aussi été démontré que l'insuline agit au niveau central, principalement dans le noyau arqué de l'hypothalamus, et participe à la régulation de l'ingestion de nourriture (Plum *et al.*, 2005). Les individus obèses ont des niveaux plus élevés à jeun ainsi qu'une plus grande augmentation postprandiale d'insuline (Korek *et al.*, 2013; Shea *et al.*, 2003). Une étude récente a démontré qu'une diète riche en gras saturés réduit la sensibilité à l'insuline chez des humains obèses et en surplus de poids, sans toutefois causer d'augmentation de la masse adipeuse intra-abdominale (von Frankenberg *et al.*, 2017). Chez des rats Long-Evans, une diète riche en lipides induit une hyperinsulinémie, une résistance à l'insuline et une perte de sensibilité centrale à l'insuline, indépendamment du fait qu'ils deviennent obèses ou non (Woods *et al.*, 2004). Chez la même souche de rats, une diète riche en lipides administrée pendant 3 jours a suffi à diminuer l'effet anorexigène de l'insuline (Clegg *et al.*, 2011). Dans la même étude, une administration chronique de la même diète obésogène cause une altération de la signalisation de l'insuline et une expression réduite de POMC dans l'hypothalamus suite à une administration endogène d'insuline. La résistance centrale à l'insuline pourrait être provoquée, en partie, par une inflammation hypothalamique induite par l'effet des acides gras saturés provenant de la diète (Arruda *et al.*, 2011; Milanski *et al.*, 2009).

Lorsque soumis à un choix de nourriture, les rats préfèrent ingérer celle qui contient une quantité élevée de lipides (Kasper *et al.*, 2014). Outre l'effet du goût (Gaillard *et al.*, 2008; Matsumura *et al.*, 2007) ou de l'odeur (Kinney et Antill, 1996), ceci peut s'expliquer par d'autres mécanismes. En effet, mis à part leurs effets modulatoires sur la sensibilité à plusieurs hormones régulant l'appétit et la satiété au niveau central, les lipides influencent aussi d'autres zones du cerveau contrôlant le système de récompense, ou système hédonique (Lutter et Nestler, 2009). L'ingestion de lipides

est contrôlée, en partie, par les noyaux accumbens de la zone corticale prosencéphalique (Will *et al.*, 2003). Il a été démontré qu'un repas riche en lipides stimulait de façon plus importante certaines autres zones du cerveau, telles le noyau caudé, le gyrus et l'hippocampe, qu'un repas riche en glucides (Stice *et al.*, 2013). Les stimuli au niveau cérébral causés par la nourriture semblent être indépendants de leur contenu calorique (Wang, G. J. *et al.*, 2004). Chez des souris nourries d'une diète riche en lipides durant 8 semaines, puis resoumises à une diète normale « chow », il est possible d'observer plusieurs changements dans l'expression de protéines et de récepteurs des amygdales, résultant en un désir accru de consommer de la nourriture riche en lipides (Sharma *et al.*, 2013). Des conclusions similaires peuvent être tirées d'une étude semblable sur des rats Sprague-Dawley, alors qu'un retrait d'une diète riche en lipides stimule des régions du cerveau associées au stress (Martire *et al.*, 2014).

D'autre part, une diminution de la dopamine dans l'aire tegmentale ventrale pourrait expliquer la consommation accrue de nourriture chez des souris soumises à une diète riche en lipides (Cordeira *et al.*, 2010). Il a aussi été possible d'observer, chez des rats Wistar devenus obèses après avoir consommé une diète riche en lipides, une diminution des récepteurs à la dopamine D2 dans le striatum, ce qui suggère le développement d'une dépendance à la diète (Johnson et Kenny, 2010). Chez des rats Sprague-Dawley, le même type de diète peut causer une altération de la signalisation de la dopamine dans le circuit mésolimbique, phénomène qui précède l'apparition de l'obésité (Rada *et al.*, 2010). La dopamine joue aussi un rôle important dans les processus de stress menant à une rechute vers une diète riche en lipides chez des rats Long-Evans (Nair *et al.*, 2011). Chez des rats Wistar, il a été démontré qu'une diète riche en lipides peut induire un effet d'anxiété en modulant la neurotransmission de l'acide γ-aminobutyrique (GABA) dans la portion dorsomédiale de l'hypothalamus (de Noronha *et al.*, 2017). D'autres recherches ont d'ailleurs pu confirmer les effets

d'une diète riche en lipides chronique sur l'anxiété et l'anhédonie (Dutheil *et al.*, 2016).

Un autre facteur pouvant mener à l'obésité et influencé par la teneur en lipides d'une diète est le profil alimentaire, plus spécifiquement la taille individuelle et le nombre de repas. En réponse à différents repas soumis de façon aiguë, des rats Long-Evans ont ingéré plus de calories d'un repas riche en lipides en augmentant la taille et le nombre de repas (Warwick *et al.*, 2000). En utilisant la même souche de rats sur une courte période de 9 jours, d'autres chercheurs ont conclu que les rats soumis à une diète riche en lipides augmentaient la taille, mais pas le nombre de leurs repas (Melhorn *et al.*, 2010). Une autre étude utilisant des rats Sprague-Dawley soumis à une diète riche en lipides durant 19 semaines a aussi conclu que l'obésité dont ils souffraient étaient due à une augmentation de la taille, mais pas du nombre de leurs repas (Farley *et al.*, 2003). Plusieurs autres études tendent à confirmer ces résultats (Furnes *et al.*, 2009; Synowski *et al.*, 2005; Treesukosol et Moran, 2014; Warwick *et al.*, 2003).

À l'inverse, une autre étude a démontré une augmentation du nombre de repas et une diminution de la taille des repas après 21 jours chez la même souche de rats; ces changements étaient toutefois atténués après 8 semaines de la même diète, ce qui démontre une adaptation dans les processus d'appétit et de satiété (Paulino *et al.*, 2008). Il semblerait aussi qu'une diète riche en lipides puisse influencer le rythme circadien (Pendergast *et al.*, 2013), tel que démontré par une plus grande consommation de nourriture, incluant des plus gros repas, durant la phase passive (jour) chez des souris (Kentish *et al.*, 2016). Ce même phénomène avait préalablement été observé chez des rats Zucker susceptibles à l'obésité (Mistlberger *et al.*, 1998). Un accès à une diète obésogène alloué à heures fixes permettrait de préserver l'intégrité du rythme circadien, atténuant ainsi le développement de l'obésité (Sherman *et al.*, 2012).

La plupart des souches de rongeurs utilisées en recherche sont des animaux nocturnes; la majorité de leurs déplacements et de leur consommation de nourriture a lieu la nuit (Campi et Krubitzer, 2010). Ces comportements diurnes et nocturnes sont contrôlés, en partie, par le rythme circadien. En effet, mis à part son rôle modulatoire dans le système de récompense (McClung, C. A., 2007), le rythme circadien exerce aussi un effet sur l'activité locomotrice (Benstaali *et al.*, 2001). Bien que l'influence de l'activité physique sur l'obésité soit fortement établie (Bensimhon *et al.*, 2006), il est fort plausible que le lien causal soit bidirectionnel (Rising *et al.*, 1994). Les effets possibles d'une diète obésogène sur l'activité physique, motrice ou locomotrice, a été proposée il y a près de trente ans (Levin, 1991). Chez des rats nourris d'une diète riche en lipide durant 4 mois, le rythme circadien subit une dégradation qui reflète celle observée chez des rats âgés (Bravo Santos *et al.*, 2016). Après 16 semaines de diète obésogène, il a été possible d'observer une activité locomotrice réduite chez des rats Sprague-Dawley (Mifune *et al.*, 2015). Des diminutions similaires ont pu être observées chez des souris pour l'activité locomotrice (Sun *et al.*, 2015) et l'activité physique volontaire (Mendoza *et al.*, 2008). De plus, il a été démontré que des souris nourries d'une diète « Western » montraient une activité locomotrice réduite après seulement quelques heures, phénomène qui a perduré durant les 21 jours de l'étude (Bjursell *et al.*, 2008). Il semblerait toutefois que ces modifications soient réversibles après un retour à une diète normale « chow » (Branecky *et al.*, 2015).

D'autre part, une altération du rythme circadien peut se traduire par des changements au niveau du sommeil. Plusieurs études ont démontré un lien entre l'obésité et le temps, mais aussi la qualité de sommeil (Liu, X. *et al.*, 2008; Rao, M. N. *et al.*, 2009; Vgontzas *et al.*, 2008). Une augmentation du temps de sommeil total a pu être observée chez des souris nourries d'une diète riche en lipides durant 6 semaines (Jenkins *et al.*, 2006). Une autre étude chez des souris soumises à une diète obésogène durant 8 semaines a aussi observé une augmentation du sommeil, mais également une qualité du sommeil diminuée, indépendamment du poids corporel

(Perron *et al.*, 2015). Chez des rats Sprague-Dawley, il a été démontré que 4 semaines de diète riche en lipides induisaient un plus long temps total de sommeil ainsi qu'une plus grande fragmentation des périodes d'éveil (Luppi *et al.*, 2014). Les mêmes résultats ont pu être observés chez des souris après 6 semaines, bien que ces effets se sont montrés réversibles après 4 semaines de diète normale « chow » (Guan *et al.*, 2008). Les rats soumis à une diète obésogène seraient aussi plus à risque de souffrir d'apnée du sommeil (Ramadan *et al.*, 2007).

3.3 Le muscle squelettique

Outre leurs effets centraux, les diètes riches en lipides affectent aussi plusieurs organes et structures périphériques jouant un rôle dans le développement de l'obésité et des maladies métaboliques. Parmi ces structures comptent les muscles squelettiques, dont les principales fonctions mécaniques sont la locomotion et le maintien de la posture, représentant environ 40% de la masse corporelle d'un individu moyen et comprenant plus de la moitié des protéines du corps (Frontera et Ochala, 2015). Chaque fibre musculaire a comme membrane plasmique le sarcolemme, qui est entouré de l'endomysium. Les fascicules, regroupant généralement une centaine de fibres, sont entourés du périmysium. Ces fascicules, chacun entouré de nerfs et de vaisseaux sanguins, sont recouverts de l'épimysium et du fascia (Gillies et Lieber, 2011). Sous le sarcolemme, les noyaux contrôlent le type de protéine synthétisé dans un compartiment spécifique et jouent un rôle dans la protection de l'intégrité de l'ADN (Cadot *et al.*, 2015). Entre le sarcolemme et la lamina nucléaire se situent plusieurs cellules satellites qui ont pour rôle la croissance et la régénération musculaire, ayant la capacité de proliférer et de se différencier en nouvelles cellules musculaires (Morgan et Partridge, 2003). Situées en périphérie, mais aussi entre les myofibrilles, les mitochondries ont comme rôle principal la production d'énergie sous

forme d'adénosine triphosphate (ATP), mais participent aussi à d'autres mécanismes tels l'apoptose, la prolifération cellulaire et la signalisation du calcium (Lanza et Sreekumaran Nair, 2010). Aussi majoritairement situé en périphérie, le réticulum sarcoplasmique est responsable de la gestion du calcium intracellulaire (Hill *et al.*, 2001). Les concentrations de calcium sont aussi régulées par les tubules transverses, ou tubules T, qui pénètrent plus profondément dans la fibre et qui sont responsables de transmettre le potentiel d'action à travers la cellule (Al-Qusairi et Laporte, 2011) (Figure 3.4).

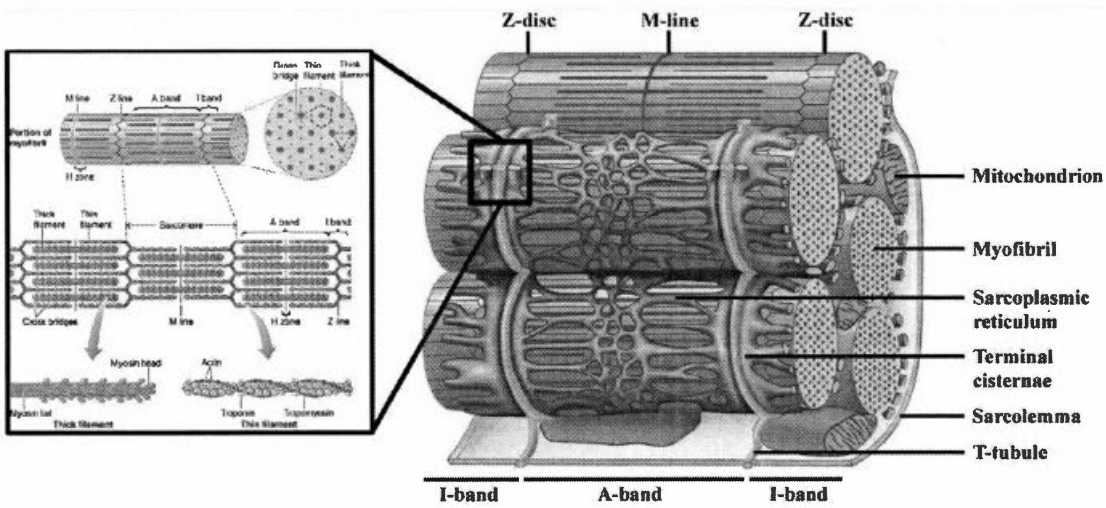


Figure 3.4 : Structure du muscle squelettique

Chaque fibre musculaire contient plusieurs myofibrilles, qui sont elles-mêmes composées de plusieurs sarcomères séparés par des lignes-Z. La bande I contient principalement de minces filaments d'actine alors que la bande A contient d'épais filaments de myosine. La titine joue un rôle structural en reliant l'actine aux lignes-Z ainsi que la myosine aux lignes-M centrales. Lors d'une contraction, la myosine tire les filaments d'actine vers la ligne-M, ce qui crée un raccourcissement du sarcomère

et de la zone H centrale (Frontera et Ochala, 2015). Plusieurs facteurs peuvent influencer la vitesse et l'amplitude de la contraction musculaire et, conséquemment, la force générée par cette dernière. Au niveau neuronal, la vitesse, ou fréquence, de stimulation de l'unité motrice est le facteur principal influençant la force produite lors d'une contraction maximale (Duchateau et Baudry, 2014). Durant la phase d'initiation de la contraction, la capacité de l'unité motrice à générer des doubles décharges, ou doublets, influence aussi la force produite (Mrowczynski *et al.*, 2015). D'autre part, la synchronisation des décharges d'unités motrices pourrait influencer la production de la force, bien que cette théorie soit mise en doute (Kline et De Luca, 2016). En situation de fatigue musculaire, plusieurs mécanismes, dont une diminution de l'excitabilité des unités motrices ainsi qu'une diminution des efférences du cortex moteur, contribuent à une baisse de la force (Taylor *et al.*, 2016). Cette dernière est aussi causée pas plusieurs autres mécanismes.

En situation de fatigue, la capacité de libération de calcium (Ca^{2+}) du réticulum sarcoplasmique est réduite, potentiellement à cause d'une diminution de potassium (K^{+}) intracellulaire jumelée à une accumulation de K^{+} extracellulaire pouvant diminuer l'amplitude du potentiel d'action (Sejersted et Sjogaard, 2000). Une autre théorie implique une élévation de la concentration du phosphate inorganique, produit de l'hydrolyse de la créatine phosphate, qui peut pénétrer dans le réticulum sarcoplasmique et précipiter avec le Ca^{2+}, ce qui résulte en une réduction de la disponibilité de ce dernier (Fryer *et al.*, 1995). Lors d'un exercice intense, l'utilisation de la créatine phosphate résulte aussi en des taux élevés de créatine et d'adénosine diphosphate (ADP), un nucléotide pouvant inhiber la pompe calcium du réticulum sarcoplasmique (Macdonald et Stephenson, 2006). D'autre part, la fatigue cause une diminution d'ATP intracellulaire qui, jumelée à une augmentation de la concentration de magnésium (Mg^{2+}), peut induire une diminution de la libération de Ca^{2+} (Karatzaferi *et al.*, 2001).

La respiration mitochondriale produit de l'ATP, mais aussi des dérivés réactifs de l'oxygène (*reactive oxygen species*; ROS). Ces ROS peuvent aussi être produits à l'extérieur de la mitochondrie à l'exercice, comme dans le cytosol, de par l'action de NADPH oxydase (Sakellariou *et al.*, 2013). En faible concentration, les ROS peuvent être bénéfiques à la production de force et à la résistance à la fatigue (Mollica *et al.*, 2012). Par contre, lorsque l'intensité de l'exercice augmente, la production de ROS est accélérée, ce qui contribue à la fatigue musculaire. Les ROS peuvent inhiber l'action de la pompe sodium-potassium, ce qui induit la fatigue musculaire en altérant le ratio Na^+/K^+ (McKenna *et al.*, 2006). Durant une activité musculaire intense, les ROS peuvent aussi diminuer la sensibilité des myofibrilles au Ca^{2+} (Cheng, A. J. *et al.*, 2015), mécanisme impliquant l'interaction potentielle des ROS avec la troponine (de Paula Brotto *et al.*, 2001) qui induirait une altération dans la liaison de l'actine et de la myosine (Galinska-Rakoczy *et al.*, 2008). D'autre part, une étude récente a démontré l'existence d'un résidu sensible à l'oxydation situé sur l'interface de liaison à l'actine de la myosine (Moen *et al.*, 2014); les ROS pourraient donc inhiber l'action de la myosine en interagissant aves ce résidu.

Par ailleurs, une diminution du glycogène intramusculaire peut aussi induire une diminution de la libération et du recaptage de Ca^{2+} par le réticulum sarcoplasmique (Ortenblad *et al.*, 2011). Le glycogène, situé majoritairement entre les myofibrilles, mais aussi dans leur intérieur, constitue en effet une source majeure d'énergie pour le muscle à l'exercice et l'épuisement de ses stocks induit aussi la fatigue par d'autres mécanismes encore non-élucidés (Ortenblad *et al.*, 2013). En situation d'exercice aérobie, une disponibilité réduite de l'oxygène, nécessaire à la production d'ATP, peut aussi induire la fatigue musculaire (Amann *et al.*, 2007). Une autre théorie, jadis largement acceptée dans le domaine de l'activité physique, impliquant la diminution du pH cellulaire résultant d'une hausse de la concentration d'ions d'hydrogène (H^+) due à l'accumulation musculaire d'acide lactique, a été mise en doute il y a plus d'une décennie (Stackhouse *et al.*, 2001).

D'un point de vue cinétique, la longueur de muscle, ou plus particulièrement des sarcomères, affecte aussi la production de force, alors que l'efficacité du sarcomère est à son maximum lorsque l'enlignement des filaments d'actine et de myosine est optimal (Rassier *et al.*, 1999). Par ailleurs, plusieurs facteurs reliés à l'architecture du muscle peuvent aussi influencer la production de la force. Certains muscles contiennent des fibres musculaires parallèles à leur axe de génération de la force, alors que d'autres contiennent des fibres avec un (unipenné), deux (bipenné) ou plusieurs (multipenné) angles de pennation pouvant varier entre 0 et 30 degrés (Lieber et Friden, 2000). Par exemple, chez un rat Sprague-Dawley adulte moyen, les fibres des muscles soléaire et *extensor digitorum longus* (EDL) ont un angle de pennation d'environ 4 et 9 degrés, respectivement (Eng *et al.*, 2008). Un angle de pennation plus élevé affectera la force de façon négative (Lieber et Friden, 2000). D'autre part, une masse plus importante ainsi qu'une fibre musculaire plus courte contribuent à une plus grande aire transversale physiologique (*physiological cross-sectional area*; PCSA) (Lieber et Ward, 2011). Cette mesure a été démontrée comme étant proportionnelle à la capacité de production d'un muscle (Powell *et al.*, 1984). Elle se calcule comme suit :

$$PCSA = \frac{M \cdot \cos\theta}{\rho \cdot L_f}$$

M indique la masse du muscle en g alors que θ est l'angle de pennation. La densité musculaire (ρ) est prédéterminée à 1,056 g/cm^{-3} et L_f indique la longueur de la fibre musculaire. Le rat moyen a un soléaire de 0,134 g d'une longueur de 2,83 cm ainsi qu'une fibre musculaire de 1,97 cm alors que son EDL pèse 0,131 g, mesure 2,81 cm et comprend des fibres de 1,34 cm. Ceci résulte en une PCSA de 0.07 cm^2 pour le muscle soléaire alors que celui de l'EDL est de 0,09 cm^2 (Eng *et al.*, 2008). Par

contre, ces aspects structuraux ne peuvent expliquer la totalité des différences de force observées dans le muscle squelettique.

3.2.1 Les types de fibre musculaire

Chez les mammifères, les types de fibres musculaires varient selon l'espèce, tout comme leur représentation dans chaque muscle, leur grosseur et leur fonction (Mascarello *et al.*, 2016). Il existe plusieurs isoformes de chaînes lourdes de myosine (*myosin heavy chain*; MHC) et ceux-ci sont utilisés pour déterminer le type de fibre musculaire (Pette et Staron, 2000). Ainsi, chez le rat, il est possible d'observer des fibres de type I (gène MYH7), de type IIA (gène MYH2), de type IIX (gène MYH1) et de type IIB (gène MYH4) dans le muscle squelettique, ainsi que des fibres intermédiaires, ou hybrides, telles les fibres I/IIA ou IIA/IIX (Bloemberg et Quadrilatero, 2012). Chez des rats mâles adultes Sprague-Dawley, il est possible d'observer, dans le muscle soléaire, une proportion d'environ 84% de fibres de type I ayant une aire transversale anatomique (*anatomical cross-sectional area*; ACSA) moyenne de 4140 μm^2, 7% de fibres IIA ayant une ACSA de 3740 μm^2 et 9% de fibres IIX ayant une ACSA de 3500 μm^2, mais aucune fibre de type IIB. Dans leur EDL, il est possible d'observer 4% de fibres de type I ayant une ACSA de 1460 μm^2, 20% de fibres IIA ayant une ACSA de 1605 μm^2, 38% de fibres IIX ayant une ACSA de 2215 μm^2 et 38% de fibres de type IIB ayant une ACSA de 4478 μm^2 (Delp et Duan, 1996). Ceci démontre que la grosseur de chaque type de fibre n'est pas uniforme dans tous les muscles d'une même espèce.

De par l'action de leurs unités motrices respectives, les fibres de type I sont qualifiées comme étant lentes et résistantes à la fatigue alors que les fibres de type II sont qualifiées de rapides et se fatiguent plus rapidement; les fibres IIA sont plus résistantes à la fatigue, les fibres IIB sont rapidement fatigables, tout comme les

fibres IIX (Sieck, 1994). Leur capacité de résistance à la fatigue suit donc cet ordre croissant: IIB < IIX < IIA < I. À l'inverse, leur capacité de production de force suit cet ordre: I < IIA < IIX < IIB (Linari *et al.*, 2004). Toujours dans le même ordre, la consommation d'ATP augmente selon le type d'isoforme de MHC (Han *et al.*, 2003). L'hydrolyse de l'ATP est catalysée par l'enzyme myosine ATPase, dont les niveaux sont plus importants dans les fibres rapides (Lowe *et al.*, 2004). En étudiant les muscles soléaire et EDL du rat, il a aussi été possible d'observer que le réticulum sarcoplasmique était moins développé dans les fibres de type I, mais que les lignes-Z étaient plus épaisses dans ces dernières (Schiaffino *et al.*, 1970). Il a aussi été démontré que le contenu en créatine phosphate de l'EDL d'un rat est deux fois plus important que celui du soléaire (Kushmerick *et al.*, 1992). De même, l'activité de l'enzyme créatine kinase est plus élevée dans les fibres de type IIB et moins élevée dans les fibres de type I chez le rat (Watchko *et al.*, 1996).

Les 4 types de fibres ont aussi des capacités oxydatives et glycolytiques différentes. La capacité oxydative d'un muscle dépend, entre autres, de sa densité capillaire (Wust *et al.*, 2009). Chez le rat, il est possible d'observer une plus grande capillarisation dans le muscle soléaire oxydatif comparativement à l'EDL glycolytique (Murakami *et al.*, 2010). Le contenu et l'activité des mitochondries dans le muscle est aussi un déterminant majeur de sa capacité oxydative. L'activité de l'enzyme citrate synthase, impliquée dans la première étape du cycle de Krebs, est souvent mesurée afin d'évaluer le contenu mitochondrial d'un muscle (Larsen *et al.*, 2012). Chez le rat, les fibres ayant une plus grande activité de citrate synthase sont les IIA, suivies, dans l'ordre, des types I, IIX et IIB (Delp et Duan, 1996). L'évaluation de l'activité de l'enzyme succinate déshydrogénase (SDH), aussi impliquée dans le cycle de Krebs et dans la chaîne respiratoire en tant que complexe II, est aussi une mesure fiable du contenu mitochondrial d'un muscle (Tanji et Bonilla, 2008). Il a été démontré que l'activité de SDH est plus élevée dans les fibres IIA du soléaire de rats, comparativement aux fibres I (Gouspillou *et al.*, 2014). Dans le muscle glycolytique

plantaris, l'activité de la SDH est, en ordre croissant, IIB < IIX < I < IIA, ce qui tend à confirmer la capacité oxydative supérieure des fibres IIA.

Plusieurs facteurs sont aussi déterminants dans la capacité glycolytique d'un muscle. Chez l'humain, il semble que la quantité intramusculaire de glycogène ne varie pas selon le type de fibres musculaires (Nielsen, J. *et al.*, 2010). Par contre, chez des individus entrainés, la distribution intramusculaire du glycogène est différente, alors que celui-ci est distribué de façon plus importante entre les myofibrilles dans les fibres de type II (Nielsen, J. *et al.*, 2011). Chez le rat, il est possible d'observer de plus grandes quantités de glycogène dans la portion blanche du muscle gastrocnemius, qui contient seulement des fibres de type IIX et IIB, comparativement au soléaire (Nielsen, J. N. *et al.*, 2001). Ces quantités sont toutefois plus élevées dans la portion rouge du gastrocnemius, qui contient 51% de fibres I et 35% de fibres IIA. Il semblerait aussi que l'activité de l'enzyme glycogène synthase, essentielle à la glycogénogenèse, ne soit pas différente dans les muscles soléaire et EDL du rat (Murphy, R. M. *et al.*, 2012). Il semble aussi que le transporteur de glucose GLUT4 soit plus abondant dans les fibres oxydatives chez le rat (Castorena *et al.*, 2015). D'autre part, la concentration et l'activité de l'enzyme glycogène phosphorylase, facteur limitant de la glycogénolyse, sont plus élevées dans le muscle EDL des rats, comparativement au muscle soléaire (Goodman et Stephenson, 2000; Murphy, R. M. *et al.*, 2012). Une autre étude a aussi pu observer une activité plus élevée de la même enzyme dans le muscle glycolytique tibialis antérieur de rats, comparativement au soléaire (Montori-Grau *et al.*, 2009). Par ailleurs, la phosphofructokinase (PFK) est considérée comme étant la plus importante de la dizaine d'enzymes impliquées dans la glycolyse (Sola-Penna *et al.*, 2010). Il a été démontré que l'activité de cette enzyme est plus importante dans les muscles contenant majoritairement des fibres de type II chez le rat (Delp *et al.*, 1997). Ces résultats indiquent que, malgré une disponibilité similaire des substrats, la capacité d'utilisation de ceux-ci soit supérieure dans les fibres de type II.

Le muscle squelettique démontrant une certaine plasticité, il est possible qu'une modification des fibres musculaires soit induite par certains mécanismes. De hautes concentrations de calcium cytosoliques mènent à l'activation de la calcineurine, située dans les lignes-Z, qui peut déphosphoryler le facteur nucléaire des lymphocytes T activés (*nuclear factor of activated T-cells*; NFAT); la translocation de ce dernier dans le noyau induit la formation de fibres lentes (Naya et al., 2000). L'enzyme CaMK (*Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase*) est aussi activée par des concentrations élevées de calcium. La CaMK prévient la désacétylation de MEF2 (*myocyte enhancer factor-2*), qui induit la production de fibres lentes, par HDAC4 (*histone deacetylase 4*) en phosphorylant cette dernière (Liu, Y. *et al.*, 2005). De plus, MEF2 peut être déphosphorylé et activé par la calcineurine (Dunn *et al.*, 2001). Une augmentation de l'activité de l'enzyme AMPK (*AMP-activated protein kinase*) induite par une diminution du ratio ATP/AMP peut aussi mener à une transformation vers un phénotype plus oxydatif (Sanchez et al., 2012). L'AMPK stimule plusieurs coactivateurs, dont PGC1-α (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-α*) qui stimule à son tour plusieurs facteurs de transcription, dont MEF2 (Lin *et al.*, 2002; McGee et Hargreaves, 2010). D'autre part, le micro-ARN stimulant l'expression du gène MYH7 (miR-208b) peut inhiber l'expression du facteur de transcription SOX6 (McCarthy *et al.*, 2009), qui lui peut freiner la production de fibres lentes (Huang, S. *et al.*, 2016).

Le remodelage du phénotype musculaire peut aussi être induit par la diète ou le statut pondéral. Chez des individus obèses, ainsi que chez des individus diabétiques, il est généralement possible d'observer un plus faible pourcentage de fibres oxydatives jumelé à un plus haut pourcentage de fibres glycolytiques (Oberbach *et al.*, 2006; Tanner *et al.*, 2002). Ces modifications pourraient être dues à la baisse de l'activité de PGC1-α en situation d'obésité (Mulya *et al.*, 2017). Suite à 3 jours de diète riche en lipides, il a été possible d'observer une diminution de PGC1-α dans le muscle quadriceps de jeunes hommes en santé (Sparks *et al.*, 2005). La même étude a

observé des résultats similaires dans le gastrocnemius de souris après 3 semaines de diète obésogène. Une autre étude a observé, chez des souris mâles, un déclin des fibres de type I au profit de fibres hybrides I/IIA dans le muscle soléaire après une diète obésogène à long terme (Denies *et al.*, 2014). Une étude récente a aussi pu observer un déclin des fibres de type I dans les muscles lombaires, mais pas dans le tibialis antérieur, de souris après 6 semaines de diète riche en lipides (Hua *et al.*, 2017). Par ailleurs, 4 semaines de diète obésogène pourrait stimuler la production de fibres lentes dans le quadriceps de souris, sans toutefois modifier significativement l'activité de PGC1-α (de Wilde *et al.*, 2008). À l'inverse, Ciapaite et collègues ont observé que 5 semaines de diète riche en lard ou en huile de palme induisaient une hausse de PGC1-α dans le muscle EDL, sans toutefois modifier la composition des fibres (Ciapaite *et al.*, 2015). Similairement, une autre étude a pu démontrer que 12 semaines, mais pas 4 semaines, de diète obésogène peuvent diminuer le nombre de fibres IIB au profit de fibres IIX dans l'EDL de souris (Eshima *et al.*, 2017). Thomas et ses collègues ont toutefois démontré ce même changement dans le muscle tibialis antérieur après 3 semaines (Thomas *et al.*, 2014). Le même groupe a aussi observé une augmentation des fibres IIA dans le muscle soléaire. La disparité entre ces résultats démontre que le remodelage du phénotype musculaire, chez la souris, varie selon plusieurs facteurs, dont la durée de la diète et le phénotype initial muscle. Dans plusieurs de ces études, un remodelage musculaire est associé à une modification de la force générée par le muscle (Lee, S. R. *et al.*, 2015).

Chez le rat, il semble que les effets d'une diète riche en lipides n'apparaissent pas aussi rapidement. Une étude a observé une présence accrue de PGC1-α après 4 semaines dans le muscle épitrochléen chez des rats Wistar (Hancock *et al.*, 2008). Les mêmes résultats ont pu être observés dans la portion blanche du quadriceps après 6 semaines (Fillmore *et al.*, 2010). Par contre, aucun changement dans la composition des fibres n'a pu être observé après deux semaines dans le muscle épitrochléen (Pataky *et al.*, 2017) ou après 4 semaines dans le muscle soléaire (Collins *et al.*,

2017). De même, une autre étude n'a remarqué aucun changement dans le muscle soléaire ou plantaris de rats femelles après 16 semaines, ce qui suggère une influence du sexe sur le remodelage des fibres (Campbell *et al.*, 2015). Nagamoto et ses collègues ont pu démontrer une diminution des fibres de type I dans le soléaire au profit des fibres IIA après 10 semaines, changement qui était jumelé à la diminution de l'expression de PGC1-α (Nagatomo *et al.*, 2012). À l'inverse, toujours après 10 semaines de diète riche en lipides, Kaneko et collègues ont observé une augmentation des fibres de type I au profit des fibres de type II dans le soléaire de rats Wistar (Kaneko *et al.*, 2011). Toutefois, cette augmentation était jumelée à la diminution de l'expression de PGC1-α, ce qui tend à contredire la majorité de la littérature. Cette diminution des fibres I dans le soléaire a aussi pu être remarquée après 6 semaines chez des rats Sprague-Dawley (Liao et Xu, 2011). La même étude a aussi pu remarquer une augmentation des fibres de type I dans l'EDL, ce qui souligne le caractère spécifique de chaque muscle en réponse à une diète obésogène.

3.2.2 La résistance à l'insuline

Tout comme le foie et les tissus adipeux, le muscle squelettique est impliqué dans les mécanismes de résistance à l'insuline. De façon globale, la résistance à l'insuline est caractérisée par la capacité réduite de l'insuline d'induire la translocation de GLUT4 du cytosol vers la membrane cellulaire (Garvey *et al.*, 1998). Ceci diminue l'entrée de glucose dans la cellule, résultant en une hyperglycémie sanguine. Les lipides, ou acides gras, peuvent participer à ce mécanisme de plusieurs façons (Dresner *et al.*, 1999), en s'accumulant dans la cellule sous forme de diglycérides ou de céramides. Ces derniers sont impliqués dans le développement de la résistance à l'insuline (Ussher *et al.*, 2010) et leur production est stimulée par la consommation d'acide palmitique (Schmitz-Peiffer *et al.*, 1999). Les céramides peuvent altérer la voie de signalisation de l'insuline au niveau de la protéine kinase B (Akt) (Samuel et

Shulman, 2010) en promouvant sa déphosphorylation sur ses résidus Thr308 et Ser473 via l'activation de la protéine phosphatase 2A (PP2A) (Blouin *et al.*, 2010). Les diglycérides, eux, activent la protéine kinase C θ (PKCθ) qui peut phosphoryler IRS-1 (*insulin receptor substrate 1*) sur son résidu Ser307 et ainsi l'empêcher de réagir avec son récepteur (Aguirre *et al.*, 2002). Les acides gras libres peuvent aussi induire la résistance à l'insuline par certains mécanismes inflammatoires. Activé par les acides gras, TLR4 (*toll-like receptor 4*) induit l'activation de JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) et de IκB kinase (IKK). En plus de causer l'activation de NF-κB, ceci cause aussi la phosphorylation d'IRS-1 sur son résidu Ser307 (Aguirre *et al.*, 2000; Gao *et al.*, 2002).

Une altération dans le fonctionnement des mitochondries, jumelée à l'accumulation intramusculaire de lipides, pourrait aussi être une cause de la résistance à l'insuline (Chow *et al.*, 2010). Par contre, il n'est toujours pas clair si la dysfonction mitochondriale est une cause ou une conséquence de la résistance à l'insuline. D'autre part, la présence accrue de ROS, causant un stress oxydant, est aussi une cause suggérée du développement de la résistance à l'insuline (Houstis *et al.*, 2006). Plusieurs auteurs ont suggéré des modèles expliquant les mécanismes impliquant la mitochondrie. Di Meo et collègues suggèrent que la production de ROS par les mitochondries, et d'autres sources, induit une dysfonction mitochondriale résultant en une production élevée de ROS, créant une réaction de feedback positif (Di Meo *et al.*, 2017). Martins et ses collègues suggèrent que des taux élevés d'acides gras chroniques induisent une capacité oxydative mitochondriale réduite jumelée à une production élevée de ROS, ce qui mène à l'accumulation de céramides et de diglycérides (Martins *et al.*, 2012). De son côté, Rachek souligne le rôle important de l'acide palmitique dans la production de ROS (Lambertucci *et al.*, 2008) ainsi que dans la dysfonction mitochondriale induite par une baisse de l'expression de PGC1-α et de TFAM (*mitochondrial transcription factor A*) (Rachek, 2014) (Figure 3.5).

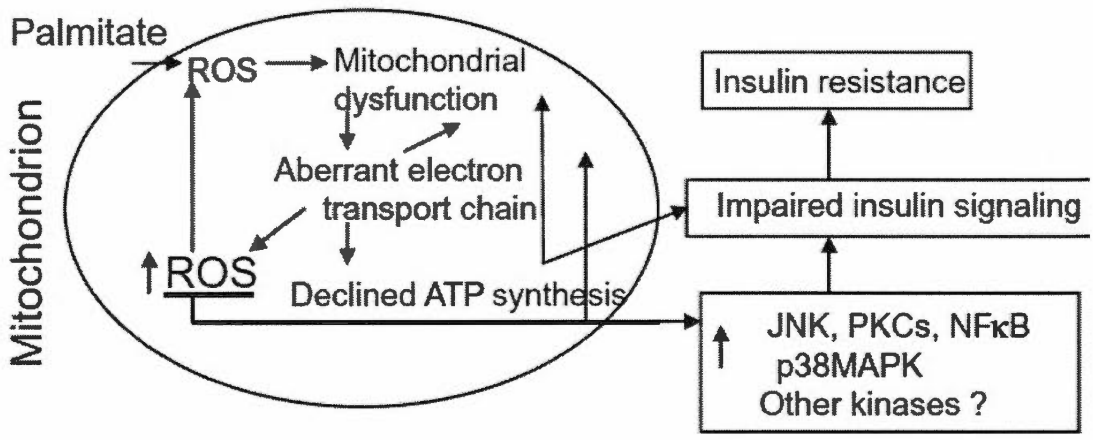


Figure 3.5 : Mécanisme de résistance à l'insuline

L'accumulation de lipides intramusculaire se produit lorsque l'entrée d'acides gras dans la cellule est supérieure à leur oxydation. Plusieurs études ont démontré l'effet d'une diète riche en lipides sur l'accumulation de lipides intramyocellulaire ainsi que sur le développement de la résistance à l'insuline chez l'humain (Kakehi *et al.*, 2016) et chez le rat (Kaneko *et al.*, 2011). Cette dernière étude a observé une accumulation de lipides dans le soléaire ainsi qu'une altération de la biogénèse mitochondriale après 10 semaines. À l'inverse, une autre étude a démontré, après 25 semaines de diète riche en lipides, que le contenu en mitochondries était plus élevé dans le muscle tibialis antérieur de rats Wistar, ainsi qu'une accumulation de lipides intramyocellulaires plus que triplée (van den Broek *et al.*, 2010). Cette hausse du contenu des mitochondries serait un mécanisme compensatoire en situation de résistance à l'insuline et de dysfonction mitochondriale. Chez l'humain, une seule semaine de diète riche en lipides suffit à augmenter significativement les niveaux de lipides intramyocellulaires dans le muscle quadriceps (Schrauwen-Hinderling *et al.*, 2005).

Chez le rat, ce processus est encore plus rapide, alors qu'une accumulation a été observée après seulement 4 jours de diète obésogène chez de jeunes rats Sprague-Dawley (Bonen *et al.*, 2015). Cette accumulation était jumelée à une hausse de CD36 (*cluster of differentiation 36*), dont le rôle est d'importer des acides gras dans la cellule, ainsi que des niveaux de diglycérides et de céramides. Ceci induirait une diminution de la translocation de GLUT4 après avoir soumis les animaux à la diète obésogène durant 21 jours. Baek et ses collègues ont pu démontrer, toujours chez le rat Sprague-Dawley, que l'accumulation de lipides dans le muscle soléaire pouvait être réversible après un retour à une diète « normale » chow (Baek *et al.*, 2018). Il est toutefois possible que cette accumulation ait induit une dysfonction mitochondriale qui ne soit pas aussi facilement réversible. Par ailleurs, il a été suggéré que la grosseur des gouttelettes lipidiques situées sous le sarcolemme avait une influence sur la résistance à l'insuline (Nielsen, J. *et al.*, 2017). Une autre étude récente tend à confirmer que la taille des gouttelettes lipidiques, plus que le contenu total de lipides intermusculaires, est reliée à la sensibilité à l'insuline (Covington *et al.*, 2017).

3.4 Le stress oxydant et l'inflammation

Le stress oxydant est caractérisé comme étant un débalancement entre la production de ROS et la capacité de l'organisme à les réduire, brisant ainsi l'homéostasie du système oxydatif (Valko *et al.*, 2007). Le maintien de cette homéostasie dépend de réactions d'oxydoréduction dans lesquelles l'oxydant est réduit en gagnant un électron et le réducteur est oxydé en perdant ce même électron. Bien qu'ils soient nécessaires dans plusieurs processus importants tels la respiration mitochondriale, la transmission cellulaire, les mécanismes de défense contre certains agents pathogènes et l'apoptose, les ROS tels le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$) sont hautement toxiques (Seifried *et al.*, 2007). Les

peroxydes et radicaux libres peuvent en effet oxyder certaines protéines (Garcia-Garcia *et al.*, 2012), peroxyder des lipides (Mylonas et Kouretas, 1999) ainsi qu'oxyder l'ADN (Barzilai et Yamamoto, 2004). Les altérations causées aux protéines, aux lipides et à l'ADN par les ROS sont impliquées dans la pathogenèse de plusieurs maladies telles le diabète, les maladies cardiovasculaires, le cancer et certaines maladies auto-immunes (Schieber et Chandel, 2014). Le stress oxydant est aussi impliqué dans le développement de plusieurs maladies dégénératives telles l'Alzheimer et le Parkinson (Uttara *et al.*, 2009), tout comme dans le processus de vieillissement global (Venkataraman *et al.*, 2013).

Le stress oxydant et l'obésité sont aussi intimement reliés. L'augmentation du stress oxydant chez des individus obèses serait un des principaux facteurs menant au développement du syndrome métabolique (Furukawa *et al.*, 2004), du diabète et de plusieurs autres pathologies (Matsuda et Shimomura, 2013). Ainsi, des marqueurs de stress oxydant seraient positivement reliés à la masse adipeuse chez des individus obèses (Pihl *et al.*, 2006). De plus, le stress oxydant serait plus important chez des individus montrant une accumulation de masse adipeuse viscérale, ou androïde (Kelli *et al.*, 2017). Il semble aussi que des individus obèses, mais ne souffrant d'aucune autre pathologie, démontrent une capacité antioxydante réduite (Chrysohoou *et al.*, 2007). Une récente étude a toutefois observé une augmentation compensatoire des enzymes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez des individus obèses non-diabétiques, signe d'une altération du métabolisme de H_2O_2 dans les tissus adipeux (Akl *et al.*, 2017).

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer le phénomène d'augmentation du stress oxydant qui est directement relié aux processus inflammatoires exacerbés par l'obésité (Galassetti, 2012). Cette inflammation est liée en partie à l'augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires telles le facteur de nécrose tumorale α (*tumor necrosis factor α*; TNF-α) (Tzanavari *et al.*, 2010), le *transforming growth*

factor β1 (TGF- β1) (Fain *et al.*, 2005), l'interleukine 1 (IL-1) (Lee, M. K. *et al.*, 2016) et l'interleukine 6 (IL-6) (Eder *et al.*, 2009; Sindhu *et al.*, 2015) observée en situation d'obésité. Ces cytokines peuvent ensuite stimuler la protéine *nuclear factor* κB (NF-κB) qui contrôle lui-même plusieurs gènes, impliqués dans les processus inflammatoires (Tornatore *et al.*, 2012) et contribuant à plusieurs pathologies, dont l'obésité (Shoelson *et al.*, 2007). De plus, ces cytokines stimulent la production de ROS (Yang, D. *et al.*, 2007), qui peuvent à leur tour augmenter l'inflammation par la stimulation de NF- κB, qui stimule à son tour la production de cytokines, créant un lien bidirectionnel et un cercle vicieux (Biswas, 2016) (Figure 3.6).

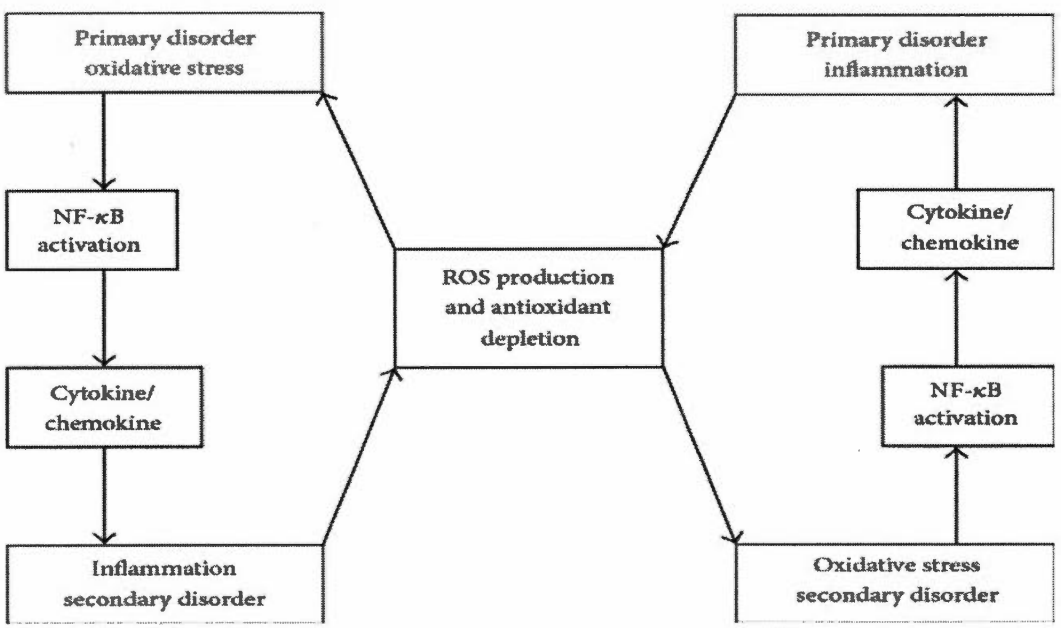


Figure 3.6 : Lien bidirectionnel entre le stress oxydant et l'inflammation

D'autre part, les adipokines, enzymes sécrétées par les tissus adipeux, peuvent aussi influencer les processus inflammatoires et la production de ROS. La leptine, dont les

taux sont significativement augmentés chez les individus obèses, montre des propriétés pro-inflammatoires (Iikuni *et al.*, 2008), influant positivement sur la production de TNF-α (Shen, J. *et al.*, 2005). À l'inverse, l'adiponectine démontre un effet anti-inflammatoire (Ouchi et Walsh, 2007) et pourrait exercer un effet protecteur contre l'inflammation et plusieurs pathologies y étant associées en situation d'obésité (Ohashi *et al.*, 2015). Toutefois, les taux d'adiponectine sont significativement réduits chez les individus obèses (Nayak *et al.*, 2010). La résistine, qui contribue à l'obésité chez les rongeurs et les humains (Park et Ahima, 2013), est aussi associée au stress oxydant chez ces derniers (Laurikka *et al.*, 2014). La visfatine peut elle aussi induire de l'inflammation par l'activation de NF- κB (Lee, W. J. *et al.*, 2009), elle-même stimulée par la production de ROS (Kim *et al.*, 2008). Cette adipokine, impliquée dans le développement de l'obésité et d'autres pathologies en découlant (Chang, Y. H. *et al.*, 2011), a récemment été proposée en tant que nouveau marqueur de stress oxydant (Marseglia *et al.*, 2016). À l'inverse, l'apéline aurait des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Than *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016). Exerçant un effet inhibiteur sur la sécrétion de l'insuline, les taux d'apéline sont généralement plus élevés chez les individus obèses et diabétiques (Bertrand *et al.*, 2015). Ce phénomène pourrait toutefois être attribuable au développement d'une résistance à cette adipokine impliquée dans le contrôle de l'homéostasie glucidique (Cavallo *et al.*, 2012).

À plus court terme, une diète riche en lipides peut aussi induire du stress oxydant. Chez des rats Wistar, 2 mois de diète riche en lipides ont augmenté le stress oxydant dans le foie, le pancréas et les vaisseaux sanguins (Auberval *et al.*, 2014). Après 12 semaines de diète obésogène, il est possible d'observer des taux sériques et hépatiques significativement plus élevés de TNF-α et d'IL-6 ainsi que des taux réduits d'enzymes antioxydantes chez des rats Sprague-Dawley (Yida *et al.*, 2015). Chez des souris, une diète riche en lipides augmente la production de ROS dans le foie et les tissus adipeux, créant un stress oxydant qui précède une hausse observable

de TNF-α et une résistance à l'insuline (Matsuzawa-Nagata *et al.*, 2008). Chez des humains, il a été démontré qu'un repas riche en lipides induit une hausse aiguë du stress oxydant comparativement à un repas riche en dextrose (Bloomer *et al.*, 2010). D'autre part, une diète obésogène peut aussi induire du stress oxydant dans le muscle squelettique. Chez des souris, les taux de superoxyde et de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP; NADPH sous sa forme réduite) oxydase, nécessaire à la formation du superoxyde, étaient significativement plus élevés dans le muscle tibial antérieur après 8 semaines de diète obésogène (Yokota *et al.*, 2009). De plus, 16 semaines de diète riche en lipides induit une augmentation de TNF-α et de plusieurs interleukines pro-inflammatoires dans le muscle gastrocnemius de souris (Gortan Cappellari *et al.*, 2016). Dans le même muscle de souris, une autre étude a pu observer une réduction de l'enzyme antioxydante catalase après 13 semaines de diète (Pimenta *et al.*, 2015). Chez des rats femelles, une diète isocalorique riche en lipides administrée durant 14 semaines a pu induire une réduction de glutathion peroxydase (GPX) dans le muscle gastrocnemius (Catala-Niell *et al.*, 2008).

Une récente étude a pu démontrer que des rats nourris d'une diète riche en lipides montraient aussi des taux sériques de malondialdehyde significativement plus élevés que le groupe contrôle (Bodur *et al.*, 2018). Le malondialdehyde (MDA) est un composé organique résultant de la péroxydation d'acides gras polyinsaturés par des ROS; il est donc utilisé comme biomarqueur du stress oxydant (Nielsen, F. *et al.*, 1997). Des concentrations élevées de MDA ont aussi été observées après 8 semaines d'une diète riche en lipides dans les foies de rats Wistar (Milagro *et al.*, 2006). Des résultats similaires ont pu être observés chez des souris après 12 semaines (Meng *et al.*, 2011). Chez des rats Wistar, 6 semaines de diète riche en lipides ont suffi pour augmenter significativement les taux de MDA dans les tissus adipeux blancs en plus d'augmenter les concentrations de H_2O_2 et de diminuer les concentrations de superoxyde dismutase et de glutathion peroxydase (Charradi *et al.*, 2013). De plus, un seul repas riche en lipides suffirait à faire augmenter significativement la quantité de

MDA hépatique après 48 heures de jeûne chez des rats Wistar (Nassar *et al.*, 2014). Une augmentation de MDA a aussi été observée dans les muscles squelettiques de rats Wistar après 10 semaines de diète obésogène (Maithilikarpagaselvi *et al.*, 2016). Similairement, des niveaux plus élevés de MDA ont été mesurés dans le muscle soléaire de rats Sprague-Dawley après 12 semaines (Li, G. *et al.*, 2015).

3.4.1 Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide composé de glycine, de cystéine et d'acide γ-glutamique (γ-L-glutamyl-L-cystéinylglycine) se retrouvant en quantité importante dans la majorité des cellules de l'organisme (Lu, 2000). Le foie étant son lieu de production principal, il est donc un important régulateur de l'homéostasie du glutathion dans plusieurs autres organes (Ookhtens et Kaplowitz, 1998). La forme oxydée (GSSG) du glutathion, dont la quantité est, en temps normal, 100 fois moins importante que celle du glutathion réduit (GSH), est composée de deux GSH liés par leur atome de soufre respectif (Griffith, 1999). Avant d'être importé dans la mitochondrie (Ribas *et al.*, 2014), le GSH est produit dans le cytosol de la cellule par un de trois mécanismes distincts. Premièrement, la synthèse *de novo*, qui requiert deux molécules d'ATP, est catalysée par les enzymes glutamate-cystéine ligase (GCL) et glutathion synthase (GSS). Ce processus est dépendant de la quantité intracellulaire de cystéine, qui constitue un facteur limitant (Meister *et al.*, 1986). De plus, le GSH inhibe l'activité de GCL par feedback négatif, ce qui constitue un autre important mécanisme de régulation de la production de GSH (Griffith et Meister, 1979). L'activité ou la disponibilité de GCL est donc considérée comme un deuxième facteur limitant (Lu, 2009). Le second mécanisme de production implique la réduction du GSSG en GSH par une réaction catalysée par la glutathion réductase (GSR) et nécessitant du NADPH. Le recyclage du GSSG permet aussi d'augmenter la disponibilité de la cystéine, ce qui stimule la synthèse *de novo*. En dernier lieu, la

cystéine de la forme conjuguée du glutathion peut être recyclée par l'entremise de γ-glutamyltransférase (GGT) et de NADPH (Pizzorno, 2014) (Figure 3.7).

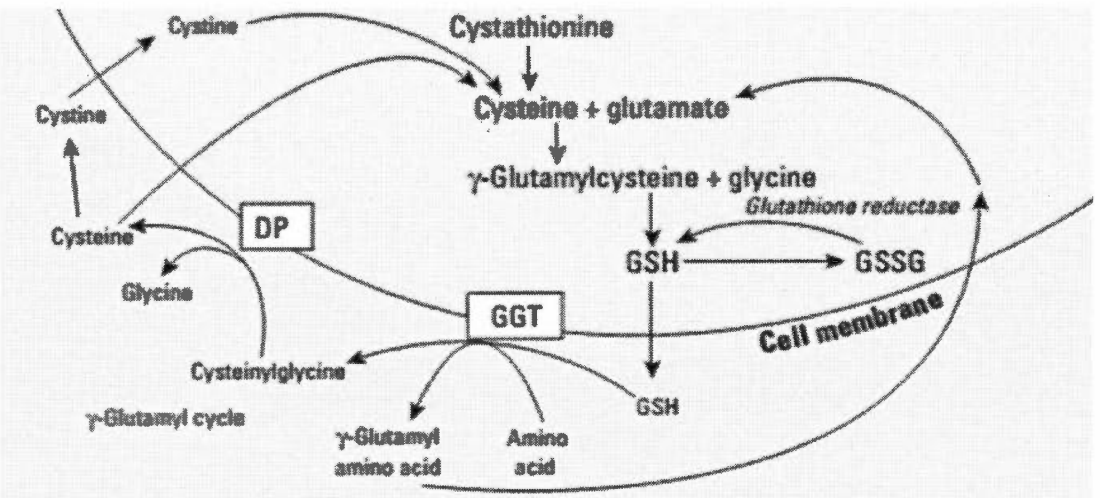


Figure 3.7 : La synthèse du glutathion

Le glutathion participe à plusieurs mécanismes importants dans l'organisme, dont la régénération de la vitamine C et de la vitamine E (Chan, 1993), le transport du mercure à l'extérieur des cellules et du cerveau (Kerper *et al.*, 1996), la régulation de l'apoptose cellulaire (Circu et Aw, 2012), la régulation de la prolifération cellulaire (Pallardo *et al.*, 2009) et le maintien de l'ADN mitochondrial (Ayer *et al.*, 2010). Son rôle le plus connu est toutefois celui d'antioxydant, protégeant contre les dommages potentiels pouvant être causés par les ROS. Ainsi, le glutathion interagit avec plusieurs ROS directement ou par l'entremise d'une enzyme telle la GPX, qui est, avec la catalase et la SOD, une des trois plus importantes enzymes antioxydantes (Birben *et al.*, 2012). En piégeant des radicaux libres, le GHS est converti en radical glutathionyl ($GS^{\cdot}$), ce qui crée par la suite du superoxyde qui est dismuté par la SOD (Winterbourn, 1993), phénomène qui souligne l'importance de la synergie entre les

divers antioxydants. Deux molécules de GSH sont requises afin de réduire le H_2O_2 en GSSG et deux molécules de H_2O, réaction nécessitant la GPX comme catalyseur (Deneke et Fanburg, 1989). En condition de stress oxydant, le ratio GSH:GSSG, qui est d'environ 100:1 dans une cellule au repos, peut diminuer jusqu'à 10:1 ou même moins (Chai *et al.*, 1994); ce ratio est donc communément utilisé en tant que marqueur de stress oxydant (Owen et Butterfield, 2010; Zitka *et al.*, 2012). Deux molécules de GSH sont aussi nécessaires à la réduction d'hydroperoxydes organiques (ROOH), réaction catalysée par la GPX ou la glutathion S-transférase (GST) dont le produit est GSSG ainsi que H_2O et ROH (Lu, 2013) (Figure 3.8).

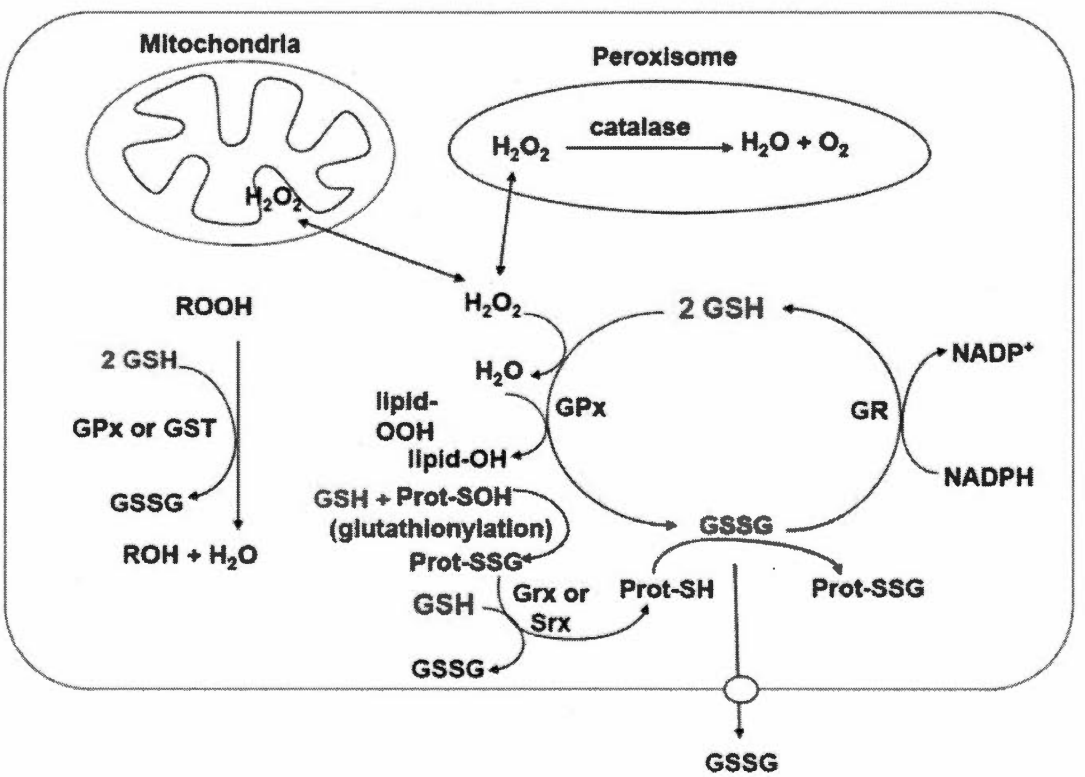


Figure 3.8 : Les fonctions antioxydantes du glutathion

Étant donné l'importance du stress oxydant dans le développement de plusieurs pathologies, les défenses antioxydantes, dont le glutathion est un contributeur principal, jouent un rôle tout aussi important dans la protection contre les dommages pouvant être causés par les ROS (Pham-Huy *et al.*, 2008). Les individus présentant un métabolisme du glutathion déficient génétiquement sont hautement à risque de développer plusieurs maladies, dont le cancer et plusieurs maladies cardiovasculaires (Ristoff et Larsson, 2007). Bien que moins flagrantes, les conséquences d'altérations au métabolisme du glutathion n'étant pas dues à une maladie génétique sont tout de même importantes et jouent un rôle dans la pathogénèse de plusieurs maladies. Des taux de glutathion réduits sont observés chez des individus souffrant de plusieurs maladies dégénératives, dont l'Alzheimer, pathologie dans laquelle il est en effet possible d'observer une activité réduite de la GSS et de la GCL (Liu, H. *et al.*, 2004). Chez des individus souffrant du Parkinson, une autre maladie associée au vieillissement, il est possible d'observer une diminution du GSH ainsi que du ratio GSH:GSSG dans la *substantia nigra* du mésencéphale (Sian *et al.*, 1994). En fait, le vieillissement en soi est lié à des niveaux de GSH plus faibles (Lang *et al.*, 2000) ainsi qu'à un système de défense antioxydant moins efficace (Okoduwa *et al.*, 2015; Rybka *et al.*, 2011).

Des taux réduits de GSH sont aussi observés chez des individus souffrant de maladies cardiovasculaires (Shimizu *et al.*, 2004), de maladies pulmonaires (Gould et Day, 2011), de maladies immunitaires (Guerra *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2014) et de fibrose kystique (Dickerhof *et al.*, 2017; Lands, L. C. *et al.*, 1999). Le GSH occupe aussi un rôle protecteur contre les dommages que les ROS peuvent causer à l'ADN (Chatterjee, 2013), altérations qui constituent un des mécanismes menant à la formation de cancers (Scott *et al.*, 2014). Ainsi, les taux de glutathion seraient réduits dans le plasma et les érythrocytes de patients souffrant de cancer (della Rovere *et al.*, 2000). Il est toutefois possible d'observer, dans plusieurs cellules cancéreuses résistantes à la chimiothérapie, des taux élevés de GSH ainsi qu'une activité accrue

de GCL et de GGT, ce qui contribuerait à stimuler la prolifération et réduire l'apoptose (Estrela *et al.*, 2006). Ces taux élevés de glutathion sont observables dans les cellules cancéreuses de la majorité des types de cancer (Gamcsik *et al.*, 2012).

Le métabolisme du glutathion joue aussi un rôle dans l'obésité ainsi que dans plusieurs pathologies y étant reliées, bien que son rôle ne soit pas encore complètement élucidé. Quelques études ont pu observer des taux augmentés de GPX chez des individus obèses (Baez-Duarte *et al.*, 2012; Zwirska-Korczala *et al.*, 2003). Cependant, d'autres études tendent à démontrer l'inverse. Des taux sanguins réduits de GSH et de GSSG ont été observés chez des enfants souffrant d'obésité et de diabète (Pastore *et al.*, 2012). Une autre étude a aussi observé des taux réduits de GSH sanguin chez des enfants souffrant d'embonpoint et d'obésité (Albuali, 2014). De plus, chez des individus adultes souffrant de diabète de type 2, l'obésité exacerbe le diminution de l'activité de la GPX (Goyal *et al.*, 2011). Il semble que la synthèse du glutathion soit aussi inhibée chez les individus diabétiques (Yoshida *et al.*, 1995), et ce malgré l'effet positif de l'insuline sur le ratio GSH:GSSG (Bravi *et al.*, 2006). Cette diminution de GSH serait causée par une inhibition de GCL induite par une hyperglycémie prolongée (Urata *et al.*, 1996). Les taux sériques de GPX sont également réduits chez les individus souffrant du syndrome métabolique (Li, Y. *et al.*, 2013). Après une perte de poids chez des femmes obèses en santé, il est possible d'observer une hausse de GPX corrélée à une diminution d'IL-6 (Bougoulia *et al.*, 2006). Une autre étude a toutefois démontré des résultats contradictoires, observant une synthèse de GSH réduite après une perte de poids rapide chez des hommes obèses en santé (Faber *et al.*, 2002).

Il a aussi été proposé que le métabolisme du glutathion pouvait contribuer à la résistance à l'insuline et qu'une diminution du glutathion pourrait prévenir cette résistance en situation de diète obésogène (Findeisen *et al.*, 2011). Chez des souris, une surexpression de GPX nuirait au rôle joué par les ROS dans la sensibilisation à

l'insuline (McClung, J. P. *et al.*, 2004). À l'inverse, une autre étude suggère qu'une diminution de GPX jumelée à une augmentation de GCL dans les adipocytes de souris induirait une augmentation de GHS pouvant contribuer à la résistance à l'insuline (Kobayashi *et al.*, 2009). De plus, des souris *knockout* n'exprimant pas le gène de l'unité modulatoire de la GCL, dont les taux de GSH sont conséquemment réduits, sont résistantes à l'obésité et à l'accumulation de lipides induites par une diète riche en lipides et démontrent une plus grande sensibilité à l'insuline (Kendig *et al.*, 2011). Ces résultats divergents mettent en évidence le caractère complexe du métabolisme du glutathion.

Il a été démontré, depuis plusieurs années déjà, qu'une diète obésogène peut diminuer les taux de GSH et de GSSG (Sastre *et al.*, 1989). Chez des souris âgées de 4 semaines au début du protocole, il est possible d'observer des taux hépatiques de GSH réduits après 12 semaines de diète obésogène, diminution jumelée à celles de la GPX et de la SOD, mais aussi à une augmentation de la catalase (Meng *et al.*, 2011). Dix semaines de diète obésogène a aussi diminué les taux hépatiques de GSH et de GSSG, malgré la surexpression de GPX, chez des souris femelles, diminution qui était corrélée au poids corporel (Norris *et al.*, 2016). De plus, 16 semaines de diète riche en lipides a induit une diminution significative de GSH, de la GPX et de la GST dans le foie et les reins de rats mâles et femelles (Noeman *et al.*, 2011). Toutefois, une autre étude n'a pu démontrer de diminution significative des taux sériques de GSH chez des rats Sprague-Dawley après 6 mois (Wu *et al.*, 2016).

D'autre part, le glutathion musculaire peut aussi être affecté par une diète obésogène. Dans les muscles gastrocnemius de rats Sprague-Dawley âgés de 8 semaines au début du protocole, 6 semaines de diète riche en lipides ont suffi à induire une diminution de 30% du GSH ainsi qu'une diminution significative du ratio GSH:GSSG (Anderson *et al.*, 2009). Dans une étude semblable utilisant des rats de la même souche âgés de 18 semaines, 6 semaines d'une diète obésogène contenant aussi 60 % des calories

provenant des lipides a induit une hausse du GSSG et une diminution du ratio GSH:GSSG dans le muscle gastrocnemius (Fisher-Wellman *et al.*, 2013). Chez des souris, 16 semaines de diète obésogène a induit une diminution du ratio GSH:GSSG dans le muscle gastrocnemius, bien que la diminution observable du GSH n'était pas significative (Gortan Cappellari *et al.*, 2016). Un protocole de la même durée a aussi induit une diminution du ratio GSH:GSSG dans le gastrocnemius et le fois de souris mâles (Yuzefovych *et al.*, 2013). De plus, il semble que l'effet d'une diète riche en lipides sur le métabolisme du glutathion musculaire soit dépendant du type de fibres musculaires, comme en témoigne une étude qui a pu observer une diminution du GSH dans le muscle soléaire de rats Wistar après 8 semaines, mais aucun changement significatif dans les muscles EDL et épitrochléens (Pinho *et al.*, 2017).

CHAPITRE IV

MÉTHODOLOGIE

Cette section décrit brièvement l'ensemble des procédures utilisées dans ce projet de recherche. Pour plus de détails sur les méthodes spécifiques, les produits utilisés et leurs concentrations respectives, prière de consulter les articles inclus dans les chapitres V, VI et VII.

4.1 Animaux

Pour l'ensemble du projet, nous avons utilisé des jeunes rats Wistar mâles (Charles River, St-Constant, QC) d'environ 4 semaines, pesant entre 100 et 125 g chacun. Après une période d'acclimatation de trois jours dans les animaleries de l'UQAM, ils ont été divisés en deux groupes : le groupe contrôle est soumis à une diète régulière « chow » alors que le deuxième est soumis à une diète riche en lipides. L'accès à ces diètes était ad libitum pour une période de 14 jours. Les animaux étaient soumis à un cycle de lumière / obscurité de 12 heures débutant à 06h00. Afin de mieux évaluer l'évolution du poids corporel des animaux, ces derniers ont été pesés chaque jour à la même heure. À la fin de chaque protocole, les rats sont mis à jeun pour une période de 4 heures, anesthésiés avec de l'isoflurane (induction: 4%; maintien: 2%) à 1 l/min d'O_2 pour la récolte de tissus et de sang, puis sacrifiés. Toutes les procédures de ce projet de recherche ont été faites en conformité avec les recommandations du guide

du National Institutes of Health pour le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire. Le protocole a été approuvé par le Comité Institutionnel de Protection des Animaux (CIPA) de l'UQAM (numéro de permis: 0515-R3-759-0516). Tous les efforts ont été faits afin de minimiser tout inconfort potentiel pour les animaux.

4.2 Diètes

Le contenu calorique des diètes a été calculé à partir des facteurs Atwater modifiés : les protéines et les glucides contenant 3,5 kcal/g et les lipides contenant 8,5 kcal/g. La diète régulière « chow » (Charles River Rodent Diet n° 5075, Cargill Animal Nutrition, MN, USA) avait une charge calorique de 2,89 kcal/g et une composition en macronutriments de 55,2% de glucides (65,6% des calories), 18% de protéines (21,4% des calories) et 4,5% de lipides (13% des calories). La diète riche en lipides a été préparée à partir d'ingrédients purifiés selon une formule commerciale (D12492, Diet Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA). Sa charge calorique était de 4,80 kcal/g et sa composition en macronutriments était de 26,3% de glucides (19,2% des calories), de 26,2% de protéines (19% des calories) et de 34,9% de lipides (61,8% des calories). Les sources de protéines étaient la caséine et la L-cystine (98,5% et 1,5% respectivement), les sources de glucide étaient la maltodextrine et le sucrose (64,5% et 35,5% respectivement) alors que les sources de lipides étaient le lard et l'huile de soja (90,7% et 9,3% respectivement). Le lard contenait 40% de gras saturés (27% d'acide palmitique, 11% d'acide stéarique et 2% d'acide myristique) et 59% de gras insaturés (44% d'acide oléique, 11% d'acide linoléique et 4% d'acide palmitoléique) alors que l'huile de soja contenait 14% de gras saturés (10% d'acide palmitique et 4% d'acide stéarique) et 81% de gras insaturés (51% d'acide linoléique, 23% d'acide oléique et 7% d'acide alpha-linolénique). Le régime contenait également de la cellulose (64,6 g/kg), du carbonate de calcium (7,1 g/kg), du phosphate dicalcique

(16,8 g/kg), du citrate de potassium (21,3 g/kg), du bitartrate de choline (2,6 g/kg) ainsi que des mélanges de minéraux (12,9 g/kg) et de vitamines (12,9 g/kg) (Tableau 5.1).

4.3 Chambres métaboliques

La température des chambres métaboliques Oxymax CLAMS (Columbus Instruments, OH, USA) était maintenue à 22 ± 2 °C. Conformément aux instructions du fabricant, les capteurs d'O_2 et CO_2 étaient calibrés tous les deux jours. Les mesures d'O_2 et de CO_2 (ml/kg/h) ont été obtenues, en utilisant un système de calorimétrie indirecte à circuit ouvert, par le calcul de la différence entre la consommation de [O_2] et la production de [CO_2]. Le ratio d'échange respiratoire (RER) est aussi calculé à partir de la concentration des gaz ([CO_2] / [O_2]). La dépense énergétique (kcal/hr) a été estimée par le logiciel Oxymax CLAMS en utilisant l'équation suivante: Dépense énergétique = CV * [VO_2], où CV (valeur calorique) = (3.815 + 1. 232 * RER). Une balance individuelle (PL1502E, Mettler Toledo, Suisse) était installée dans chaque chambre métabolique permettant au logiciel Oxymax CLAMS d'évaluer avec précision le temps ainsi que le poids (précision de ± 0,01 g) de chaque repas. Les repas ont été calculés lorsque la balance a été utilisée pendant plus de 10 s ou lorsque plus de 0,1 g de nourriture a été ingéré. De plus, la conception unique du système permettait de minimiser les pertes de nourriture et le butinage. La consommation d'eau (ml) a été mesurée à l'aide de tubes réagissant à un faible courant électrique. La balance énergétique (apport calorique quotidien - dépense énergétique quotidienne) a également été calculée à partir des paramètres mentionnés précédemment. L'activité ambulatoire a été évaluée en continu à l'aide de photocellules infrarouges installées sur les axes X et Z des chambres. Le logiciel CLAMS calcule le nombre de fois que l'animal brise une série de faisceaux

infrarouges en séquence, ce qui permet d'exclure les comportements stéréotypiques (le bris d'un même faisceau à répétition). Le temps de sommeil est calculé lorsque l'animal ne brise aucun faisceau infrarouge pendant plus de 60 s. Tous les paramètres ont été enregistrés en continu et analysés à l'aide du logiciel Oxymax CLAMS durant les 14 jours du protocole expérimental.

4.4 Ghréline

Le sang recueilli a été placé dans des tubes refroidis, stockés sur glace pendant une heure, puis centrifugés durant 10 minutes. Le plasma a été acidifié, puis les échantillons ont été stockés à -20 °C. Les concentrations plasmatiques de ghréline acylée et désacylée ont été mesurées à l'aide de la méthode ELISA en sandwich à deux sites. Des plaques ont été revêtues d'antisérums, pour la détection de la forme acylée ou désacylée, durant une nuit. Après un blocage, les plaques ont été lavées et un tampon a été appliqué pour une incubation à 4 °C durant la nuit. Après avoir été lavées, les plaques ont ensuite été incubées pendant 1 heure avec un antisérum, pour la détection de la forme acylée ou désacylée, puis durant 30 minutes avec de la streptavidin-poly-HRP80. Les plaques ont ensuite été détectées à l'aide d'un substrat fluorescent. Tous les échantillons pour chaque rat ont été traités sur la même plaque. Le pourcentage d'acylation a été calculé en utilisant la formule suivante: 100 * AG / (AG + UAG).

4.5 Contractilité musculaire

Le système de contractilité (1205A, Aurora Scientific, Aurora, ON, Canada) a été ajusté avant chaque expérience à l'aide de poids de calibration de 10, 20 et 50 g. Alors que l'animal était sous anesthésie, les muscles EDL et soléaire ont été prélevés

de la patte gauche. Une suture de soie chirurgicale (taille 3.0) a été attachée à chaque tendon tout en préservant l'intégrité du muscle. Le muscle a été installé entre deux électrodes dans un bain à température contrôlée à 30 °C rempli d'une solution de Krebs. Une extrémité de la soie est fixée à l'appareil au fond du bain alors que l'autre extrémité est attachée à un servomoteur. Après 15 minutes, la longueur optimale du muscle (L_0), soit celle où le muscle développe la plus grande force, est déterminée par ajustements graduels en soumettant le muscle à des stimulations de 5 Hz. Une fois cette longueur optimale obtenue, elle est notée et utilisée tout au long du protocole. Ce dernier consiste en des stimulations de 600 ms à des fréquences de 5, 10, 30, 50, 75, 100, 120 et 150 Hz entrecoupées de pauses de 2 min. Après ce protocole de force-fréquence et une pause de 3 min, les muscles sont soumis à un protocole de fatigue. Ce dernier consiste en des stimulations de 50 Hz pour l'EDL et de 75 Hz pour le soléaire à chaque 2 s durant 3 min. Le temps nécessaire pour observer une réduction de la force initiale de 50% a été défini comme résistance à la fatigue. Après le protocole de fatigue et 3 min de repos, les muscles sont soumis à un protocole de récupération. En utilisant les mêmes fréquences que le protocole de fatigue, les muscles sont soumis à des stimulations à toutes les 90 s durant 30 min. Toutes les variables ont été calculées à l'aide du logiciel DMC (Aurora Scientific, Aurora, ON, Canada) qui mesurait la force, le temps entre le début de la contraction et la force maximale produite (*time to maximum*) et le temps nécessaire à la réduction de la force de 50% après la contraction (*half relaxation time*). Une fois les stimulations terminées, les muscles ont été nettoyés, séchés et pesés. La force spécifique (N/cm^2) a été obtenue en divisant le produit de la force musculaire (g) et de l'accélération gravitationnelle (9,81 m/s^2) par l'aire transversale estimée du muscle (CSA). Cette dernière a été calculée en divisant le poids du muscle (g) par le produit de la densité musculaire (1,06 mg/mm^{-3}) et de la longueur du muscle (L_0).

4.6 Typage des fibres musculaires

Afin de catégoriser les fibres musculaires et leurs aires transversales respectives, les muscles EDL et soléaire ont été récoltés de la patte droite des animaux, puis nettoyés de tout tissu adipeux ou conjonctif. La section médiale de chaque muscle a été coupée, puis montée dans de la gomme tragacanthe placée sur un disque de liège. Les sections de muscle ont ensuite été congelées dans de l'isopentane refroidi à l'azote liquide, puis stockées à -80 °C jusqu'à leur utilisation. Dans un cryostat CM1950 (Leica Biosystems, Wetzler, Allemagne) maintenu à -18 °C, des coupes transversales de muscle de 8 µm ont ensuite été effectuées, puis montées sur des lames de lysine (Superfrost, Thermo Fisher Scientific). Par la suite, une immunomarquage de ces coupes, permettant de détecter les différentes MHC, a été effectué. Un cocktail d'anticorps permettant d'identifier les fibres de type I, IIA et IIB (cocktail 1) ou IIX (cocktail 2) a été utilisé pour une incubation d'une heure, après que les coupes aient été laissées à température ambiante, réhydratées avec du PBS (pH 7,2) et bloquées avec du sérum de chèvre (10% PBS). Les coupes transversales ont ensuite été lavées (3 x) avec du PBS, incubées avec le cocktail d'anticorps secondaire pendant 1 h, lavées (3 x) avec du PBS et recouvertes d'un agent de montage antifade liquide (Prolong Gold, Invitrogen, P36930). Les anticorps primaires et secondaires ainsi que leur concentration respective ont été utilisés tel que décrit précédemment (Gouspillou *et al.*, 2014). Tous les anticorps primaires ciblant les MHC ont été achetés auprès de la Developmental Studies Hybridoma Bank (DSHB, University of Iowa, IA).

4.7 Lipides intramyocellulaires

Afin de caractériser la taille et la quantité des gouttelettes lipidiques intramyocellulaires, un marqueur fluorescent de lipides neutres, HCS LipidTOX

Green Neutral Lipid Stain (Thermo Fisher, H34475) a été utilisé. Des coupes transversales de muscle ont été fixées dans du paraformaldehyde à 4% (PFA, Sigma-Aldrich, P6148) pendant 20 minutes, puis lavées trois fois dans du PBS avant d'être incubées avec 0,275 ul/ml de DAPI dans une solution de PBS (Thermo Fisher, D3571) pendant 5 minutes. Après 3 lavages supplémentaires au PBS, les échantillons ont été incubés pendant 30 minutes dans une solution contenant 1 ul/ml de HCS LipidTOX dans du PBS. Après 3 lavages supplémentaires au PBS, les coupes ont été recouvertes de DABCO (100 mg/ml de PBS / ml de glycerol avec un ajout d'azoture de sodium). Afin de conserver le maximum de fluorescence, l'analyse microscopique a été effectuée immédiatement après.

4.8 Microscopie et analyse des images

La prise d'image a été effectuée à l'aide d'un microscope Nikon TE300 (Nikon Corporation, Tokyo, Japon) aux services de microscopie de l'UQAM. Les sections, choisies aléatoirement sur chaque image, ont été analysées à l'aide du logiciel ImageJ (NIH, USA) Pour l'analyse des fibres musculaires, 400 fibres individuelles ont été tracées en moyenne par muscle. L'aire transversale ainsi que le type de MHC ont été déterminés pour chaque fibre. Pour l'analyse des lipides intramyocellulaires, une moyenne de 170 fibres a été analysée par image. Le nombre de gouttelettes lipidiques par fibre musculaire, le pourcentage de surface couverte par les lipides et l'aire transversale moyenne des gouttelettes ont été mesurées. Les gouttelettes lipidiques ayant une aire transversale supérieure à 0,2 μm^2 ont été catégorisées comme étant de grosses gouttelettes lipidiques.

4.9 Western blot

Lors de ce protocole spécifique, les rats ont été mis à jeun pour une période de 6 heures (de 06h00 à 12h00), puis anesthésiés. Une dose de 38 ul/kg d'insuline (Humulin, Lilly, Canada) leur a ensuite été administrée. Après une période de 5 minutes, les muscles EDL et soléaire ont été rapidement récupérés et pesés. Les tissus musculaires ont été homogénéisés dans un tampon (HEPES 50 mM, pH 7,4, EDTA 2 mM, pyrophosphate de sodium 10 mM, glycérophosphate de sodium 10 mM, NaCl 40 mM, NaF 50 mM, orthovanadate de sodium 2 mM, Triton-X 100%, avec un comprimé d'inhibiteur de protéase Roche sans EDTA par 25 ml de solution) additionné de 1% de désoxycholate de sodium et de 0,1% de laurylsulfate de sodium. Les protéines ont été extraites et des tests de Bradford ont été effectués pour quantifier les niveaux de protéines. Les échantillons ont été placés sur des gels préfabriqués Nupage à 4-12% ou sur des gels Tris-Glycine à 10% (Life Technologies). Les protéines ont été transférées sur des membranes de PVDF bloquées dans 5% de lait dilué dans du PBS-Tween et incubées durant la nuit avec leur anticorps primaire à 4 °C. Les anticorps suivants ont été utilisés: IRS-1 (Cell Signaling Technology, 2382, dilution 1: 1000), Akt (Cell Signaling Technology, 4691, dilution 1: 1000), phospho-AKT S473 (Cell Signaling Technology, 9271, dilution 1: 1000), S6 (Cell Signaling Technology, 2217, dilution 1: 2500), phospho-S6 S240 / 244 (Cell Signaling Technology, 5364, dilution 1: 1000) et des anticorps secondaires ont été achetés chez Cell Signaling Technology (7076S et 7074S) et dilué 1: 5000. Le réactif de détection de Western Blot Amersham ECL (RPN2106) a été utilisé pour l'imagerie.

4.10 Glutathion

Immédiatement après le prélèvement du muscle soléaire, 0,25 g de ce dernier est homogénéisé (2 x 10 s avec Polytron Teador, Biospec Products Inc., Dremel-Racine, WI) dans 1,25 ml d'acide métaphosphorique glacé et fraîchement préparé à 5% (p / v) (Fisher A280). -100) et centrifugé pendant 3 min à 7200 g.

Immédiatement après le prélèvement, on homogénéise 0,25 g de muscle SOL (2x10 s avec Polytron Teador, Biospec Products Inc., Dremel-Racine, WI) dans 1,25 ml d'acide métaphosphorique glacé et fraîchement préparé à 5% (p/v) (Fisher A280-100), puis centrifugé durant 3 min à 7200 *g*. Les culots et les surnageants ont été conservés à -80 °C jusqu'à l'analyse des protéines et du glutathion, respectivement. Le glutathion réduit (GSH) et le disulfure de glutathion (GSSG) ont été quantifiés par électrophorèse capillaire (silice de 75 µm x 50 cm) (acide borique 75 mM et Bis-Tris 25 mM, pH 8,4, 28 °C, 18 kV), tel que décrit précédemment (Lavoie *et al.*, 2008). Le potentiel redox a été calculé en utilisant l'équation de Nernst (25 °C, pH 7,0) (Turcot *et al.*, 2009).

4.11 RT-qPCR

Les échantillons ont été incubés dans du RNAlater (Ambio), puis stockés à -20 °C. Par la suite, de 15 à 60 mg de tissus musculaires par échantillon ont été homogénéisés dans 1 ml de réactif TRIzol (Ambion) avec l'ajout d'un homogénéisateur TissueLyserII (Qiagen), puis extraits selon les instructions du fabricant. Les échantillons ont ensuite été traités avec une trousse PureLink RNA Mini Kit (Ambion) et l'ADN contaminant a été éliminé. Les concentrations et la pureté de l'ARN ont été

déterminées par un ratio d'absorbance à 260 nm et 280 nm (BioDrop). L'intégrité de l'ARN a été évaluée par visualisation des bandes intactes d'ARN 18S et 28S après l'électrophorèse sur gel d'agarose. La cDNA a été synthétisée à l'aide de SuperScript VILO Master Mix (Invitrogen) en utilisant 1 µg d'ARN par réaction de 20 µl. Les réactions en chaîne par polymérase en temps réel ont été effectuées en triplicata à l'aide de 384 puits, du système QuantStudio6 (Life Technologies) et de la trousse SYBR Select Master Mix (Applied Biosystems). Deux µl d'une dilution de cDNA 1:10 et 0,3 µM d'amorces étaient dans un volume total de 10 µl. Le protocole suivant a été utilisé: 2 min à 50 °C, 2 min à 95 °C suivies de 40 cycles de 15 s à 95 °C, 15 s à 58 °C et 1 min à 72 °C. La spécificité de la réaction a été évaluée à l'aide d'une analyse de la courbe de fusion. Des contrôles négatifs RT et des contrôles NTC ont été inclus dans les analyses PCR. Les gènes de référence ont été identifiés en utilisant des TaqMan Array Rat Endogenous Control Plates (Applied Biosystems) avec 3 échantillons pour chaque groupe. Sur les 22 gènes analysés, les quatre ayant la meilleure stabilité d'expression génique (Expression Suite, Applied Biosystems) ont été sélectionnés pour la normalisation: PUM1, PGK1, PSMC4 et RPL30 pour l'EDL et PGK1, RPL30, PPIB et PUM1 pour le soléaire. Les amorces utilisées (Tableau 6.1) ont été conçues à l'aide de Primer-BLAST (NCBI). Une courbe standard obtenue par la dilution scalaire d'un pool de cDNA a été générée afin de vérifier l'efficacité de la PCR. Les quantités normalisées et relatives de mRNA ont été calculées en utilisant le logiciel qbase+ (Biogazelle) et sont présentées comme le changement du groupe HFD par rapport au groupe RCD en utilisant la méthode ΔΔCT.

4.12 RNA-Seq

La technique utilisée pour le séquençage de l'ARN a été adapté de Pai *et al.* (Pai *et al.*, 2016). Les banques de cDNA ont été préparées en utilisant le protocole Illumina

TruSeq. Par la suite, les banques indexées ont été regroupées (6 banques par pool) en quantités équimolaires. La majorité d'entre elles ont été séquencées avec des lectures de 101 bp sur un appareil Illumina HiSeq4000. Les scores de base de mauvaise qualité et les séquences d'adaptation ont été ajustées à l'aide de Trim Galore (version 0.2.7). Les lectures en résultant ont ensuite été distribuées sur une séquence de référence du génome (Ensembl Rnor_6.0 version 81) avec STAR (version 2.4.2) en utilisant le protocole à une lecture. Le nombre maximum de décalages admis pour les paires était de 5 et une optimisation des scores d'alignement a été automatiquement appliquée par le logiciel STAR. La lecture de chaque gène a été faite à l'aide de HTseq (version 0.6.1p1) qui a été lancé séparément sur chaque fichier d'alignement supporté par SAMtools (version 0.1.19) qui utilisait le même fichier de référence que pour les alignements. Le logiciel DESeq2 (version 1.18.1) a été utilisé afin d'identifier les gènes ayant une expression significativement différente dans le groupe HFD. Une valeur de p corrigée pour FDR < 0,10 et un changement absolu du niveau d'expression moyen supérieur à 1,5 ont été considérés nécessaires afin de qualifier un gène exprimé de manière significativement différente (Love *et al.*, 2014).

4.13 Analyses statistiques

Les valeurs sont présentées en tant que moyenne ± écart type, sauf où il est indiqué différemment. La normalité de chaque distribution a été évaluée en utilisant le test de Shapiro-Wilk. Le test *t* de Student non-apparié a été utilisé pour comparer les valeurs entre les deux groupes. Un modèle de régression linéaire mixte a été utilisé afin de comparer l'évolution de paramètres sur 14 jours entre les deux groupes. La linéarité de chaque distribution a préalablement été testée. Des modèles de régression linéaire mixte ont été utilisés pour comparer l'évolution de divers paramètres sur 14 jours entre les deux groupes. Chaque distribution a été testée pour la linéarité à l'avance.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels SPSS 16.0 (IBM Corporation, Armonk, NY) et SAS Studio 3.5 (SAS Institute, Cary, NC). Le seuil de signification pour toutes les analyses statistiques a été fixé à $P < 0,05$.

CHAPITRE V

ALTERED FEEDING BEHAVIORS AND ADIPOSITY PRECEDE OBSERVABLE WEIGHT GAIN IN YOUNG RATS SUBMITTED TO A SHORT-TERM HIGH-FAT DIET

Auteurs : David E. Andrich, Lilya Melbouci, Ya Ou, Jean-Philippe Leduc-Gaudet, François Chabot, François Lalonde, Fábio Santos Lira, Bruce D. Gaylinn, Gilles Gouspillou, Gawiyou Danialou, Alain-Steve Comtois, David H. St-Pierre

Statut : Publié

Journal : Journal of Nutrition and Metabolism

Mise en contexte: Cet article avait comme objectif de mesurer différents paramètres métaboliques de jeunes rats soumis à une diète riche en lipides. Pour ce faire, ils ont été placés dans des chambres métaboliques mesurant les échanges gazeux, la consommation de nourriture et d'eau, la rythmicité des repas, la dépense calorique, l'activité ambulatoire et le sommeil. Les taux de ghréline sanguins, ainsi que le poids de divers dépôts de gras viscéral ont été mesurés à la fin du protocole de deux semaines. Cette étude démontre des changements précoces dans l'adiposité viscérale et les habitudes alimentaires de jeunes rats en réponse à une diète riche en lipides.

5.1 Abstract

Information regarding the early effects of obesogenic diets on feeding patterns and behaviors is limited. To improve knowledge regarding the etiology of obesity, young male Wistar rats were submitted to high-fat (HFD) or regular chow (RCD) diets for 14 days. Various metabolic parameters were continuously measured using metabolic chambers. Total weight gain was similar between groups, but heavier visceral fat depots and reduced weight of livers were found in HFD rats. Total calorie intake was increased while individual feeding bouts were shorter and of higher calorie intake in response to HFD. Ambulatory activity and sleep duration were decreased in HFD rats during passive and active phase, respectively. Acylated and unacylated ghrelin levels were unaltered by the increased calorie intake and the early changes in body composition. This indicates that at this early stage, the orexigenic signal did not adapt to the high-calorie content of HFD. We hereby demonstrate that, although total weight gain is not affected, a short-term obesogenic diet alters body composition, feeding patterns, satiation, ambulatory activity profiles and behaviours in a young rat model. Moreover, this effect precedes changes in weight gain, obesity and ensuing metabolic disorders.

Keywords: high fat diet, feeding patterns, calorie intake, ambulatory activity, sleep patterns, adipose tissue

5.2 Introduction

Obesity and ensuing metabolic dysfunctions are major issues for public health authorities [1–3]. This is of particular concern in pediatric populations in Canada where excess weight and obesity have reached the prevalence of 20% and 13%, respectively [4]. Early adoption of detrimental behaviors such as overeating, consumption of energy-dense foods, and lack of physical activity promote excessive weight gain. This is likely to have a major impact in later life stages since 85% of obese children become obese adults [5, 6]. Further, the initial mechanisms promoting obesity and ensuing metabolic complications remain to be better characterized by using dynamic experimental designs rather than classical static protocols. This highlights the relevance of using animal models to characterize the early steps leading to obesity and its evolution towards further pathological conditions. Obesogenic diets greatly contribute to a positive energy balance and their fat content provides approximately twice the caloric load of carbohydrates and proteins [7]. Beyond the simple energy intake/expenditure equation, high-fat diets (HFD) are suspected to promote the development of obesity through other indirect mechanisms. For instance, prior to weight gain, a significant increase in total triglyceride levels was reported after only 2 weeks in female rats submitted to HFD [8, 9]. This suggests that important physiological changes can occur early in response to HFD, and this can be detected before significant increases in body weight.

Early effects of HFD include changes in critical behaviors such as feeding, physical activity, and sleep. For instance, rats submitted to HFD for 8 weeks decreased their physical activity levels by 28% [10]. In mice, obesogenic diets were also shown to alter feeding behaviors and voluntary activity [11]. Independently of body weight fluctuations, these observations imply potential impairments in the regulation of vital functions such as appetite, satiation, satiety, energy utilization/storage, sleep, and

voluntary activity [12]. It is reported that only one week of HFD is sufficient to alter eating behaviors in adult mice [13]. Although these alterations are quickly reversed after animals are resubmitted to a standard diet [14], the early effects of HFD could negatively influence lipid and glucose homeostasis while triggering the onset of obesity-related disorders in the long term. Similarly to what is reported in mice, young rats are particularly sensitive to the dysregulation of some vital physiological functions in response to HFD [15]. This emphasizes the important adverse repercussions of an obesogenic diet in early life stages.

Critical changes in behaviors were previously noted in rats submitted to HFD for different time periods. For instance, heat production was increased before changes in weight gain, and energy intake could be detected in young rats submitted to HFD for 1 and 2 weeks [10]. Shorter feeding bouts of higher calorie content were observed before changes in weight gain in young adult rats submitted to 5 weeks of HFD [16]. However, it is currently unknown whether these changes in feeding behaviors occur earlier in response to HFD. Decreased ambulatory activity was observed after 8 weeks of HFD in adult rats [10]. Further, altered sleep patterns [17] and alternating periods of food accessibility [18] are proposed to contribute to weight gain and abdominal adiposity in rats. However, there is a critical gap of knowledge regarding how ambulatory activity and sleep are modulated by obesogenic diets over time. A lack of adaptation in the secretion of neuroendocrine orexigenic signals to calorie-dense diets could explain these phenomena. In physiological conditions, ghrelin levels raise in anticipation of a meal and decrease during the postprandial period [19]. However, postprandial acylated ghrelin (AG) levels also augment in response to stress, overfeeding, and high-fructose or high-fat diets in animals or humans [20–23]. This could explain why satiation and satiety do not adapt in response to energy-dense diets.

Most of the useful information on the etiology of obesity is derived from experiments achieved on defined set points in adult rats. However, the present study intended to characterize changes in behaviors with a dynamic model of analysis through continuous non invasive monitoring in metabolic chambers. Such experimental protocols were critical in investigating the synergy between diets, feeding and behaviors as well as to determine their repercussions on the early steps leading to obesity in young rats.

5.3 Materials and methods

5.3.1 Animal procedures

Young (100–125 g; approximately 4 weeks old) male Wistar rats (Charles River, St-Constant, QC) were randomly submitted to HFD (n = 8) or regular chow (RCD; n = 8) diets, ad libitum, after a 3-day acclimatization period at UQAM's animal facility. During the experimental procedures, rats were individually housed in metabolic chambers (at 22 ± 2°C) in Oxymax CLAMS (Columbus Instruments, OH, USA) for 14 days and submitted to a 12-hour light/dark cycle starting at 06:00. The Oxymax CLAMS system allowed measuring food/water intakes, feeding patterns, energy expenditure, ambulatory activity, and sleep profiles. Also, rats were individually weighed daily at the same hour. Sacrifice was achieved after a 4-hour fast to standardize the feeding status of each animal. Blood samples were then drawn from the heart. Perirenal, epididymal, and subcutaneous fat pads were then collected and weighed. This study was carried out in strict accordance with recommendations of the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals. The protocol was approved by the Comité Institutionnel de Protection des Animaux

(CIPA) of UQAM (Permit Number: 0515-R3-759-0516). All efforts were made to minimize any potential discomfort to the animals.

5.3.2 Diets

The regular chow diet (Charles River Rodent Diet #5075, Cargill Animal Nutrition, MN, USA) had a physiological fuel value (calculated using a modified Atwater factor) of 2.89 kcal/g and a macronutrient weight content of 55.2% carbohydrate (65.6% kcal), 18% protein (21.4% kcal), and 4.5% fat (13% kcal). The high-fat diet was prepared from purified food-grade reagents according to a commercial formulation (D12492 diet, Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA). It had a physiological fuel value of 4.80 kcal/g and a macronutrient weight content of 26.3% carbohydrate (19.2% kcal), 26.2% protein (19% kcal) and 34.9% fat (61.8% kcal). Protein sources were casein and L-cystine (98.5% and 1.5%, resp.) and lipid sources were lard and soybean oil (90.7% and 9.3%, resp.) while carbohydrate sources were maltodextrin and sucrose (64.5% and 35.5%, resp.). The diet also contained cellulose (64.6 g/kg), calcium carbonate (7.1 g/kg), dicalcium phosphate (16.8 g/kg), potassium citrate (21.3 g/kg), and choline bitartrate (2.6 g/kg) as well as mineral (12.9 g/kg) and vitamin (12.9 g/kg) mixes (Table 1).

5.3.3 Metabolic chambers

The CLAMS system's O_2 and CO_2 sensors were calibrated every second day in accordance with the manufacturer's instructions, as previously described [24]. Measurements of O_2 and CO_2 (mL/kg/hr) were achieved using open-circuit indirect calorimetry system by calculating the difference between [O_2] consumption and [CO_2] production. Furthermore, the respiratory exchange ratio (RER), highlighting the relative contributions of lipid and glucose oxidation, was calculated from the aforementioned volumetric values ([CO_2]/[O_2]). Energy expenditure (kcal/hr) was estimated by the Oxymax CLAMS software using the following equation: energy

expenditure = CV * [VO_2], where CV (i.e., calorie value) = (3.815 + 1.232 * RER) [25, 26]. For each metabolic chamber, the Oxymax CLAMS system used an individual balance (PL1502E, Mettler Toledo, Switzerland) allowing accurate in situ monitoring (±0.01 g precision) of food intake and feeding bouts (weight and duration). Feeding bouts were computed when the feeder's balance was used for more than 10 s or more than 0.1 g of food was ingested. Also, the system's unique design optimally minimized food spillage and foraging. Volumetric drinking (mL) was calculated using the sipper tube technology. Energy balance (energy balance = daily calorie intake − daily energy expenditure) was also calculated from aforementioned parameters [27, 28]. Ambulatory activity was continuously assessed using infrared photocells on the X and Z axis. It was calculated when the animal broke a series of infrared beams in sequence, thus excluding stereotypy. Sleeping time was computed when animals did not break a single infrared beam for more than 60 s, as previously described [29, 30]. All parameters were collected and analyzed using the Oxymax CLAMS software and continuously monitored throughout the 14 days of the experimental protocol.

5.3.4 Ghrelin assay

Collected blood was added to chilled EDTA Vacutainer tubes preloaded with 4-[2-aminoethyl benzene] sulfonylfluoride (Alexis Biochemicals), then stored on ice. Within 1 hour of collection, blood was centrifuged for 10 minutes at 2000 ×g at 4°C. After separation, 0.5 mL plasma was acidified with 100 L of 1 N HCl. Samples were then stored at –20°C. Plasma acylated and unacylated ghrelin concentrations were measured with a two-site sandwich ELISAs, as previously described [31]. Briefly, plates (384-well Maxisorb; Nunc, Roskilde, Denmark) were coated with acyl-specific antiserum (acylated) or affinity-purified C-terminal ghrelin antiserum (unacylated) at 1 g/mL overnight. After being blocked, the plate was washed and loaded with 25 L/well wetting/neutralization buffer (0.5 M phosphate buffer with 1% BSA, pH

7.4) and 25 L/well ghrelin standards or unknown samples and incubated overnight at 4°C. The washed plate was incubated for 1 h with either a biotinylated C-terminal ghrelin antiserum (acylated) or a biotinylated N-terminal des-acyl ghrelin-specific monoclonal antiserum (unacylated) in blocking buffer, then for 30 min with streptavidin-poly-HRP80 (RDI Fitzgerald, Concord, MA). The plate was detected with the fluorescent substrate QuantaBlu (Pierce Thermo, Rockford, IL), and fluorescence was read using a Victor2 Model 1420 (PerkinElmer, Waltham MA). All unknowns were run in duplicate, and all samples for each admission of each rat were run on the same plate. Standards were made up in acid/AEBSF-treated stripped plasma. Percentage of acylation was calculated using the following formula: 100 * AG/(AG + UAG).

5.3.5 Statistical analyses

All values are presented as means ± SD. Distribution normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Unpaired Student's t-tests were used to compare 14-day average values between the two groups. Mixed linear regression models were used to compare the evolution of various parameters over 14 days between the two groups. Each distribution was tested for linearity beforehand. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 (IBM Corporation, Armonk, NY) and SAS Studio 3.5 (SAS Institute, Cary, NC) softwares. Significance for all statistical analyses was set at $P < 0.05$.

5.4 Results

After submitting the animals to the different diets for 14 days, body weight gain (Fig. 1A) was similar in both groups and followed the same trend. However, significant differences in organs and tissues were observed at the end of the 14-day period.

Average liver weight was lower (P=0.001) while those of visceral perirenal (P=0.003) and epididymal (P=0.004) fat pads were higher in HFD than in RCD rats (Fig. 1B). On the other hand, the weight of subcutaneous fat pads was similar in both groups.

Average daily water and macronutrient intakes are shown in Table 2. Total protein and water intakes were similar between both groups (P=0.771 and P=0.091, respectively). Further, ingested carbohydrates (g/day; P<0.001) were significantly higher in the RCD group. As expected, fat intake (g/day) was more important in the HFD group (P<0.001). Calorie intakes (Fig. 2A-D) were significantly higher in the HFD group over the total experimental protocol (P=0.001) and the resting (light) phase (P=0.014) while no difference was detected during the active (dark) phase (P=0.381). The number of feeding bouts was similar between HFD and RCD rats (P=0.926; Fig. 2E). However, feeding bout duration was lower in HFD than in RCD rats (P=0.030; Fig. 2F) and a significant group x time effect (P=0.005) was also detected. It is also noteworthy that the weight of individual feeding bouts was similar in both groups (P=0.663; Fig. 2G), thus HFD rats ingested significantly more calories per bout than RCD rats (P<0.001; Fig. 2H), suggesting the alteration of mechanisms regulating satiation.

Average energy expenditure was equivalent in both groups (HFD: 70.4 ± 2.8 kcal/day vs. RCD: 69.4 ± 3.8 kcal/day; P=0.5; Fig. 3A). Further, energy expenditure was significantly higher during the active phase for both groups. As expected, HFD rats displayed lower respiratory exchange ratio (RER) values (HFD: 0.826 ± 0.006 vs. RCD: 0.975 ± 0.012; P<0.001; Fig. 3B). Higher calorie intakes and similar energy expenditure resulted in a more positive energy balance in the HFD group (P<0.001; Fig. 3C).

There was a significant difference in ambulatory activity between HFD and RCD rats during the active phase (P=0.039; Fig. 4B). However, this effect was not observed

during the resting phase (P=0.582; Fig. 4A). Interestingly, over the progression of the experimental procedures, ambulatory activity associated to the active phase decreased in HFD while remaining stable in RCD rats. Percent sleeping time was significantly lower in the HFD group (P<0.001; Fig. 4D) during the active phase but this effect was not observed over the resting period (P=0.496; Fig. 4C). No difference in the number of sleeping bouts was detected during the resting (P=0.069; Fig. 4E) or the active (P=0.454; Fig. 4F) phases.

Acylated ghrelin plasma concentrations were similar in both groups (HFD: 36.07 ± 14.13 vs. RCD: 36.71 ± 16.95 pg/mL; P=0.94; Fig. 5A). Further, no significant difference could be observed between both groups in unacylated ghrelin levels (HFD: 878.30 ± 215.93 vs. RCD: 946.34 ± 133.32 pg/mL; P=0.49; Fig. 5B) or percentage of acylation (HFD: 4.01 ± 1.59 vs. RCD: 3.67 ± 1.40 %; P=0.68; Fig. 5C).

5.5 Discussion

In the present study, the use of metabolic chambers was critical to characterize how young rats respond to HFD. To our knowledge, this is the first study that simultaneously assessed metabolic and behavioral parameters continuously in a non invasive manner over a 14-day period in young animals. Major findings of this study are that reduced satiation, active phase ambulatory activity, and percent sleep time occur before changes in weight gain in young rats submitted to HFD for a period of only 14 days. This indicates that important changes in feeding and behaviors arise early in the process leading to the excessive accumulation of fat in young growing rats. In turn, if not promptly reverted, this could promote the development of obesity and ensuing metabolic dysfunctions in later life stages.

Similar overall weight gain was observed in HFD and RCD groups over the 14-day experimental protocol. This finding is significant since short-term exposure to HFD also yielded increases in calorie intakes and impairments in the regulation of satiation. Further, these results were associated with reduced liver weight and increased mass of visceral fat pads in animals fed with this obesogenic diet. This indicates that although young rats submitted to HFD were still able to counteract excessive weight gains, alterations in body composition occurred while the mass of visceral fat depots simultaneously increased. The present results are in line with the equivalent weight gain observed over a period of up to 3 weeks in Wistar rats submitted to HFD or RCD [10]. Similar weight gains were also reported for the first 4 weeks of HFD in young Sprague Dawley rats [16]. In contrast to what was observed in rat studies, only one week of HFD was sufficient to promote significant changes in weight gain and insulin resistance in aged C57BL6 female mice [32]. Also, reductions in liver weight combined to an excessive accumulation of fat in hepatic tissues were reported in the offspring of female rats submitted to HFD during pregnancy and lactation [33]. Further, the lower liver weight observed in response to the short-term HFD could be a consequence of lower glycogen storage [34] or other uncharacterized mechanisms. Data derived from the present study strongly indicate the importance of determining the effects of HFD before weight gain occurs in young rats. Further, these results shed the light on feeding patterns and behaviors that are influenced promptly by HFD and that could have a major impact on the early alterations promoting the development of obesity in younger populations.

In addition to the metabolic adaptations observed in response to an obesogenic diet, the present results show that eating habits are altered by the short-term exposure to HFD. Impairments in the regulation of timing and rhythmicity of feeding profiles are associated to the development of obesity in rodents and humans [35]. In the present study, the number of feeding bouts was the same between young rats submitted to HFD or RCD. Over time, however, the duration of feeding bouts was reduced while

calorie intakes became higher in HFD rats. This contradicts the previous assertion that the development of obesity results from a reduction in meal numbers and an increase in snacking events in rats submitted to a highly palatable cafeteria diet [36]. However, data derived from the present study show that HFD promotes the ingestion of excessive amounts of calories before satiation can be reached. It is critical to consider that afferent endocrine signals require approximately 20 minutes to be secreted and integrated after feeding [37]. As previously reported, the regulation of appetite and satiation is a complex process involving a plethora of neuroendocrine signals derived from key organs and tissues such as the gastrointestinal tract and adipose tissues. These signals are integrated by specific centers of the brain. In the present study, no difference in AG or unacylated (UAG) ghrelin levels were detected. This result is of particular interest when considering that AG induces a potent orexigenic signal that acts primarily through its activation of neuropeptide Y (NPY) and agouti-related protein (AgRP) neurons of the arcuate nucleus that are projecting to other centers responsible for the physiological control of food intake in the hypothalamus [38–40]. Ghrelin was also reported to stimulate appetite by activating hedonic centers in the brain [41]. In physiological conditions, AG levels are increased in preprandial condition and decrease after the consumption of a meal [19]. However, postprandial AG levels were also shown to increase in response to stress, overfeeding, and high-fructose or high-fat diets in animals or humans [20–23,42,43]. This suggests that AG's orexigenic signal could be perpetuated when other neuroendocrine satiation hormones should prevail, thus leading to exaggerated calorie intakes. On the long run, ghrelin's adipogenic effects [19, 44] could also promote the excessive accumulation of lipids in different adipose tissues and liver [45, 46]. This could ultimately provoke the onset of obesity-related diseases.

In this study, energy expenditure was found to be similar in both groups regardless of the diet. Our results, obtained in response to a 14-day treatment period, are in line with those of Furnes et al., indicating that no alteration of energy expenditure occurs

in young Sprague Dawley rats submitted to a HFD or a RCD for 5, 17, and 33 weeks [16]. In contrast, energy expenditure was significantly increased during the initial 2-week period in adult Wistar rats submitted to HFD [10]. However, this increase was transient and did not persist after the second week. As expected, lower RER values were observed in HFD rats when compared to the RCD group. This confirms the prompt metabolic shift towards lipid oxidation that takes place in young rats submitted to HFD [10].

The present results show that the ambulatory activity decreases with time during the active phase in HFD rats while remaining stable in RCD rats. This is in line with data obtained after 8 weeks of HFD in adult rats [10]. It is noteworthy that voluntary physical activity was previously shown to counteract the effects of hyperphagia and of an obesogenic diet in young and aged rats [12, 47]. In human adults prone to obesity, it was suggested that increased spontaneous physical activity helps preventing weight gain induced by overfeeding [48]. This is also supported by the increased physical activity observed in normal-weight young adults submitted to overfeeding for 56 days [49]. In addition, it was proposed that spontaneous physical activity is a major predictor of weight gain in overfed humans [50]. This further supports the hypothesis that over time, obesogenic diets increase weight gain by promoting both high calorie intakes and sedentary behaviors. Finally, it has also been shown that sleep deprivation can promote obesity in rodent models and humans [51]. Lower percent sleeping time was measured throughout the experiments using HFD in our model, and the mechanisms underlying this effect remain to be elucidated. Further, a steady decline in sleep quality was observed in both groups during the 14-day period.

5.6 Conclusions

In conclusion, the present results show the pertinence of measuring key metabolic parameters and behaviors in response to obesogenic diets in a young growing rat model on a continuous basis. This study demonstrates that at a very early stage, HFD alters key functions related to appetite, feeding behaviors, satiation, fat storage, physical activity, metabolism, and sleep. It suggests that energy-dense HFD could induce a vicious cycle that promotes higher calorie intake and sedentary behaviors, two major risk factors for the development of obesity and ensuing metabolic dysfunctions. Further, the results presented herein imply the existence of a transitory state where young animals accumulate visceral adiposity while increases in weight gain are not yet detectable in response to hypercaloric intakes. However, this transitory state may only last between 2 and 4 weeks and could develop further into obesity. We anticipate that the results derived from the present study could be applied to elaborate novel interventions in nutrition and physical activity to circumvent obesity and ensuing metabolic dysfunctions at an early stage in human pediatric populations, thus opening up new avenues in human clinical and behavioral nutrition research.

5.7 Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

5.8 Acknowledgements

We would like to acknowledge Jean-Marc Lavoie, PhD and Lise Coderre, PhD for kindly accepting to revise the present manuscript.
All authors have approved the final article.
David H St-Pierre is funded by a NSERC Discovery Grant #418509-2012 and his salary support is provided by a FQRS *Chercheur Boursier Junior 1 Award.*

5.9 References

1. Garver WS, Newman SB, Gonzales-Pacheco DM, Castillo JJ, Jelinek D, Heidenreich RA, et al. The genetics of childhood obesity and interaction with dietary macronutrients. Genes & nutrition. 2013 May; 8(3): 271-87.

2. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. The New England journal of medicine. 2004 Jun 3; 350(23): 2362-74.

3. Janssen I. The public health burden of obesity in Canada. Canadian journal of diabetes. 2013 Apr; 37(2): 90-6.

4. Ogilvie KK, Eggleton A. Obesity in Canada, A Whole-of-Society Approach for Healthier Canada. 2016.

5. Dietz WH. Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease. Pediatrics. 1998 Mar; 101(3 Pt 2): 518-25.

6. Must A, Strauss RS. Risks and consequences of childhood and adolescent obesity. Int J Obes Relat Metab Disord. 1999 Mar; 23 Suppl 2S2-11.

7. Astrup A. The role of dietary fat in obesity. Semin Vasc Med. 2005 Feb; 5(1): 40-7.

8. Collin P, Chapados N, Dufresne E, Corriveau P, Imbeault P, Lavoie JM. Time course of changes in in vitro lipolysis of intra-abdominal fat depots in relation to high-fat diet-induced hepatic steatosis in rats. Br J Nutr. 2006 Aug; 96(2): 268-75.

9. Gauthier MS, Favier R, Lavoie JM. Time course of the development of non-alcoholic hepatic steatosis in response to high-fat diet-induced obesity in rats. Br J Nutr. 2006 Feb; 95(2): 273-81.

10. So M, Gaidhu MP, Maghdoori B, Ceddia RB. Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rats. Lipids Health Dis. 2011 Jun 16; 1099.

11. Yang X, Downes M, Yu RT, Bookout AL, He W, Straume M, et al. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. Cell. 2006 Aug 25; 126(4): 801-10.

12. Mifune H, Tajiri Y, Nishi Y, Hara K, Iwata S, Tokubuchi I, et al. Voluntary exercise contributed to an amelioration of abnormal feeding behavior, locomotor activity and ghrelin production concomitantly with a weight reduction in high fat diet-induced obese rats. Peptides. 2015 Sep; 7149-55.

13. Pendergast JS, Branecky KL, Yang W, Ellacott KL, Niswender KD, Yamazaki S. High-fat diet acutely affects circadian organisation and eating behavior. Eur J Neurosci. 2013 Apr; 37(8): 1350-6.

14. Branecky KL, Niswender KD, Pendergast JS. Disruption of Daily Rhythms by High-Fat Diet Is Reversible. PLoS One. 2015; 10(9): e0137970.

15. Erdos B, Kirichenko N, Whidden M, Basgut B, Woods M, Cudykier I, et al. Effect of age on high-fat diet-induced hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011 Jul; 301(1): H164-72.

16. Furnes MW, Zhao CM, Chen D. Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A study of high-fat diet-induced obesity in young rats. Obes Surg. 2009 Oct; 19(10): 1430-8.

17. Zimberg IZ, Damaso A, Del Re M, Carneiro AM, de Sa Souza H, de Lira FS, et al. Short sleep duration and obesity: mechanisms and future perspectives. Cell Biochem Funct. 2012 Aug; 30(6): 524-9.

18. Rocha LSD, de Matos RJB, de Souza JA, Costa ACO, Lopes de Souza S, Muniz GS, et al. Daytime increase in caloric intake without change in total 24-h caloric intake can increase adiposity but not total bodyweight in rats with inverted feeding pattern. Appl Physiol Nutr Metab. 2017 Sep; 42(9): 931-40.

19. Andrich DE, Cianflone K, Comtois AS, Lalonde S, St-Pierre DH. The endocrine effects of acylated and des-acylated ghrelin. Res Rep Endocr Disord. 2012; 2012(2): 31-40.

20. Sugiishi A, Kimura M, Kamiya R, Ueki S, Yoneya M, Saito Y, et al. Derangement of ghrelin secretion after long-term high-fat diet feeding in rats. Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology. 2013 Feb 3.

21. Teff KL, Elliott SS, Tschop M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2004 Jun; 89(6): 2963-72.

22. Jaremka LM, Belury MA, Andridge RR, Malarkey WB, Glaser R, Christian L, et al. Interpersonal stressors predict ghrelin and leptin levels in women. Psychoneuroendocrinology. 2014 Oct; 48178-88.

23. Wadden D, Cahill F, Amini P, Randell E, Vasdev S, Yi Y, et al. Serum acylated ghrelin concentrations in response to short-term overfeeding in normal weight, overweight, and obese men. PLoS One. 2012; 7(9): e45748.

24. Assaad H, Yao K, Tekwe CD, Feng S, Bazer FW, Zhou L, et al. Analysis of energy expenditure in diet-induced obese rats. Frontiers in bioscience. 2014; 19967-85.

25. Lusk G. Animal calorimetry: analysis of the oxidation of mixtures of carbohydrate and fat: a correction. J Biol Chem. 1924; 5941-2.

26. Chen Y, Heiman ML. Increased weight gain after ovariectomy is not a consequence of leptin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2001 Feb; 280(2): E315-22.

27. Hall KD, Heymsfield SB, Kemnitz JW, Klein S, Schoeller DA, Speakman JR. Energy balance and its components: implications for body weight regulation. Am J Clin Nutr. 2012 Apr; 95(4): 989-94.

28. Yang MU, Presta E, Bjorntorp P. Refeeding after fasting in rats: effects of duration of starvation and refeeding on food efficiency in diet-induced obesity. Am J Clin Nutr. 1990 Jun; 51(6): 970-8.

29. Pack AI, Galante RJ, Maislin G, Cater J, Metaxas D, Lu S, et al. Novel method for high-throughput phenotyping of sleep in mice. Physiol Genomics. 2007 Jan 17; 28(2): 232-8.

30. Crossland RF, Balasa A, Ramakrishnan R, Mahadevan SK, Fiorotto ML, Van den Veyver IB. Chronic Maternal Low-Protein Diet in Mice Affects Anxiety, Night-Time Energy Expenditure and Sleep Patterns, but Not Circadian Rhythm in Male Offspring. PLoS One. 2017; 12(1): e0170127.

31. Liu J, Prudom CE, Nass R, Pezzoli SS, Oliveri MC, Johnson ML, et al. Novel ghrelin assays provide evidence for independent regulation of ghrelin acylation and secretion in healthy young men. J Clin Endocrinol Metab. 2008 May; 93(5): 1980-7.

32. Winzell MS, Ahren B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. Diabetes. 2004 Dec; 53 Suppl 3S215-9.

33. Dudley KJ, Sloboda DM, Connor KL, Beltrand J, Vickers MH. Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation. PLoS One. 2011; 6(7): e21662.

34. Zhang L, Song H, Ge Y, Ji G, Yao Z. Temporal relationship between diet-induced steatosis and onset of insulin/leptin resistance in male Wistar rats. PLoS One. 2015; 10(2): e0117008.

35. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. Nutr Res Rev. 2010 Dec; 23(2): 270-99.

36. Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. PLoS One. 2013; 8(4): e60407.

37. Hetherington M, Rolls BJ, Burley VJ. The time course of sensory-specific satiety. Appetite. 1989 Feb; 12(1): 57-68.

38. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. Nature. 2000 Oct 19; 407(6806): 908-13.

39. Wang L, Saint-Pierre DH, Tache Y. Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y - synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate nucleus. Neurosci Lett. 2002 May 31; 325(1): 47-51.

40. Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008 Feb; 18(2): 158-68.

41. Malik S, McGlone F, Bedrossian D, Dagher A. Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. Cell Metab. 2008 May; 7(5): 400-9.

42. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. J Clin Endocrinol Metab. 2002 Jan; 87(1): 240-4.

43. Gomez G, Han S, Englander EW, Greeley GH, Jr. Influence of a long-term high-fat diet on ghrelin secretion and ghrelin-induced food intake in rats. Regul Pept. 2012 Jan 10; 173(1-3): 60-3.

44. St-Pierre DH, Wang L, Tache Y. Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. News Physiol Sci. 2003 Dec; 18242-6.

45. Miegueu P, St Pierre D, Broglio F, Cianflone K. Effect of desacyl ghrelin, obestatin and related peptides on triglyceride storage, metabolism and GHSR signaling in 3T3-L1 adipocytes. J Cell Biochem. 2011 Feb; 112(2): 704-14.

46. Li Z, Xu G, Qin Y, Zhang C, Tang H, Yin Y, et al. Ghrelin promotes hepatic lipogenesis by activation of mTOR-PPARgamma signaling pathway. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Sep 09; 111(36): 13163-8.

47. Shapiro A, Cheng KY, Gao Y, Seo DO, Anton S, Carter CS, et al. The act of voluntary wheel running reverses dietary hyperphagia and increases leptin signaling in ventral tegmental area of aged obese rats. Gerontology. 2011; 57(4): 335-42.

48. Schmidt SL, Harmon KA, Sharp TA, Kealey EH, Bessesen DH. The effects of overfeeding on spontaneous physical activity in obesity prone and obesity resistant humans. Obesity. 2012 Nov; 20(11): 2186-93.

49. Apolzan JW, Bray GA, Smith SR, de Jonge L, Rood J, Han H, et al. Effects of weight gain induced by controlled overfeeding on physical activity. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2014 Dec 1; 307(11): E1030-7.

50. Castaneda TR, Jurgens H, Wiedmer P, Pfluger P, Diano S, Horvath TL, et al. Obesity and the neuroendocrine control of energy homeostasis: the role of spontaneous locomotor activity. J Nutr. 2005 May; 135(5): 1314-9.

51. Knutson KL. Does inadequate sleep play a role in vulnerability to obesity? Am J Hum Biol. 2012 May-Jun; 24(3): 361-71.

5.10 Tables

Table 5.1: Ingredient composition of the high-fat diet (HFD)

Ingredient	**g/kg of diet**
Casein	258.46
L-Cystine	3.88
Maltodextrin	161.54
Sucrose	88.91
Cellulose	64.62
Soybean Oil	32.31
Lard	316.62
Mineral Mix	12.92
DiCalcium Phosphate	16.80
Calcium Carbonate	7.11
Potassium Citrate	21.32
Vitamin Mix	12.92
Choline Bitartrate	2.58

Table 5.2 : Average daily food and water intake over a 14-day period

	Diurnal			**Nocturnal**		
	RCD	**HFD**	***p***	**RCD**	**HFD**	***p***
Food Intake (g/day)	9.52 ± 3.24	5.97 ± 1.30	***.012***	18.47 ± 4.11	13.55 ± 0.87	***.011***
Carbohydrate Intake (g/day)	5.26 ± 1.79	1.57 ± 0.34	***<.001***	10.20 ± 2.27	3.56 ± 0.23	***<.001***
Protein Intake (g/day)	1.71 ± 0.58	1.56 ± 0.34	*.541*	3.32 ± 0.74	3.55 ± 0.23	*.424*
Fat Intake (g/day)	0.43 ± 0.15	2.08 ± 0.46	***<.001***	0.83 ± 0.19	4.73 ± 0.30	***<.001***
Water Intake (mL/day)	8.34 ± 3.45	6.14 ± 1.68	*.128*	24.32 ± 3.97	20.03 ± 5.05	*.079*

Means ± SD; Bold indicates significant difference between the two groups at the $P<0.05$ level

5.11 Figures

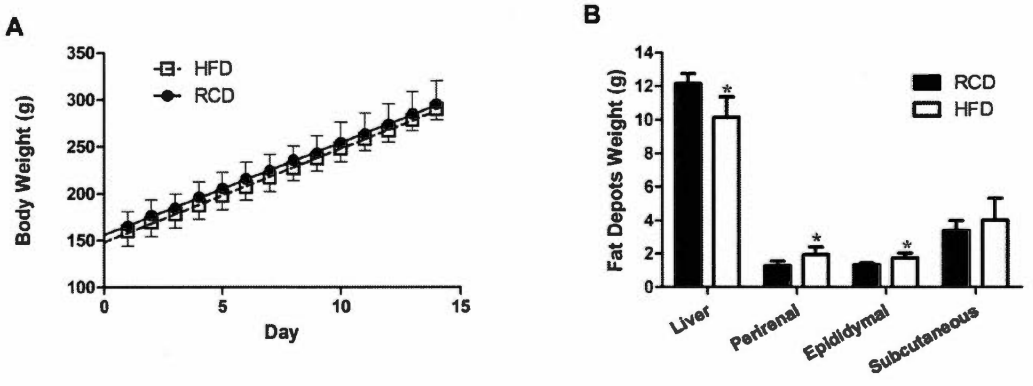


Figure 5.1

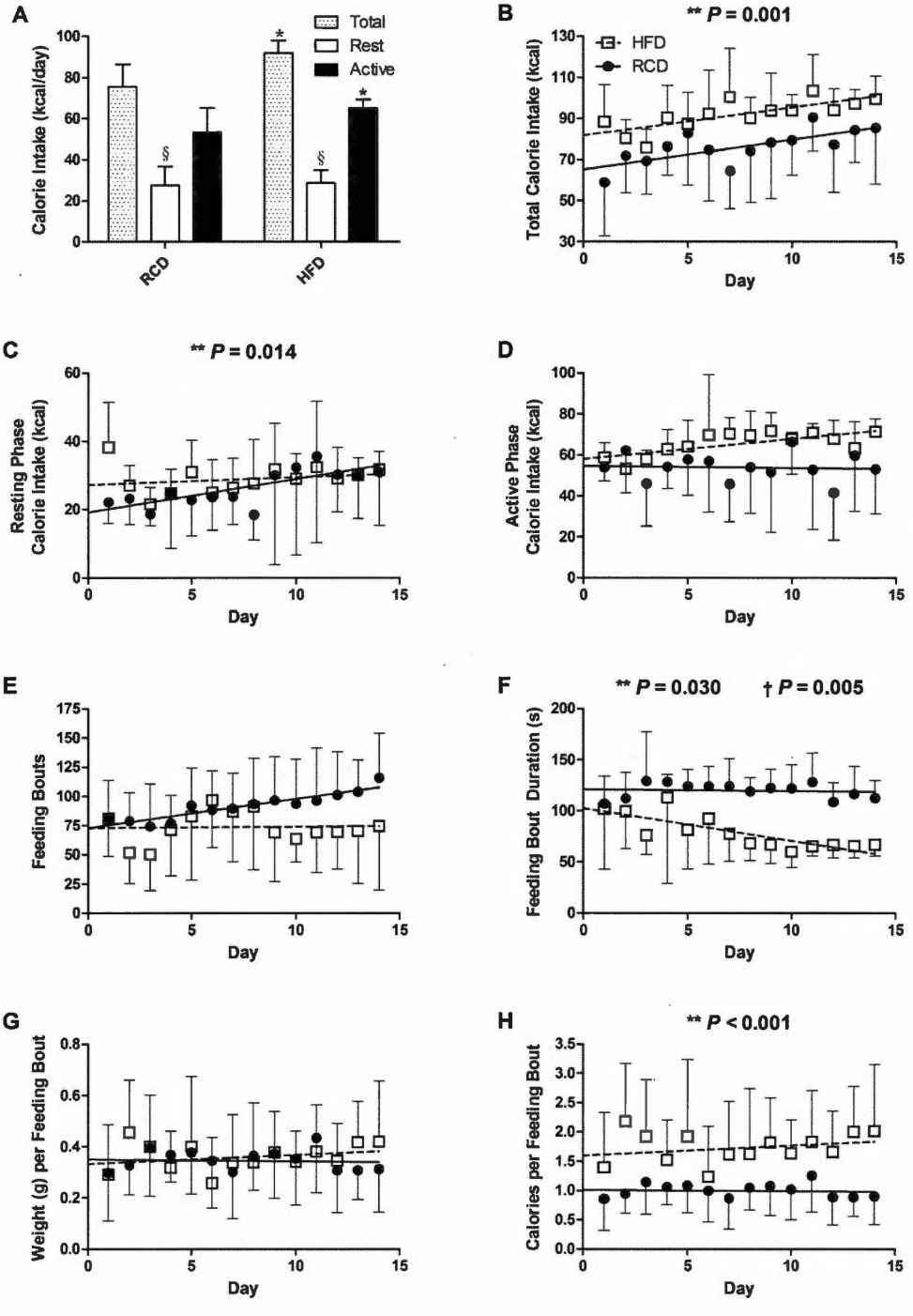

A
Total
Rest
Active
Calorie Intake (kcal/day)
RCD
HFD
B
** P = 0.001
HFD
RCD
Total Calorie Intake (kcal)
Day
C
** P = 0.014
Resting Phase Calorie Intake (kcal)
Day
D
Active Phase Calorie Intake (kcal)
Day
E
Feeding Bouts
Day
F
** P = 0.030
† P = 0.005
Feeding Bout Duration (s)
Day
G
Weight (g) per Feeding Bout
Day
H
** P < 0.001
Calories per Feeding Bout
Day

Figure 5.2

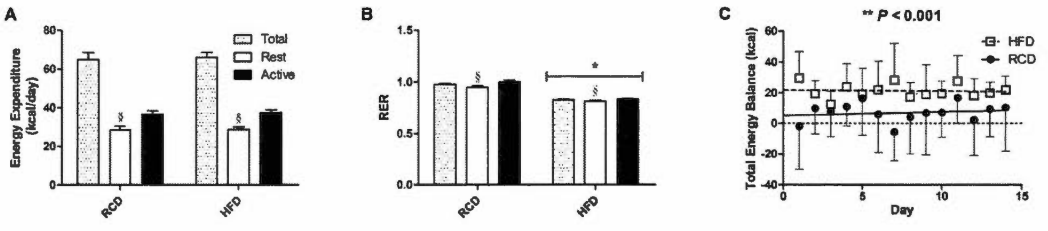

A
Energy Expenditure (kcal/day)
Total
Rest
Active
RCD
HFD
B
RER
RCD
HFD
C
** P < 0.001
HFD
RCD
Total Energy Balance (kcal)
Day

Figure 5.3

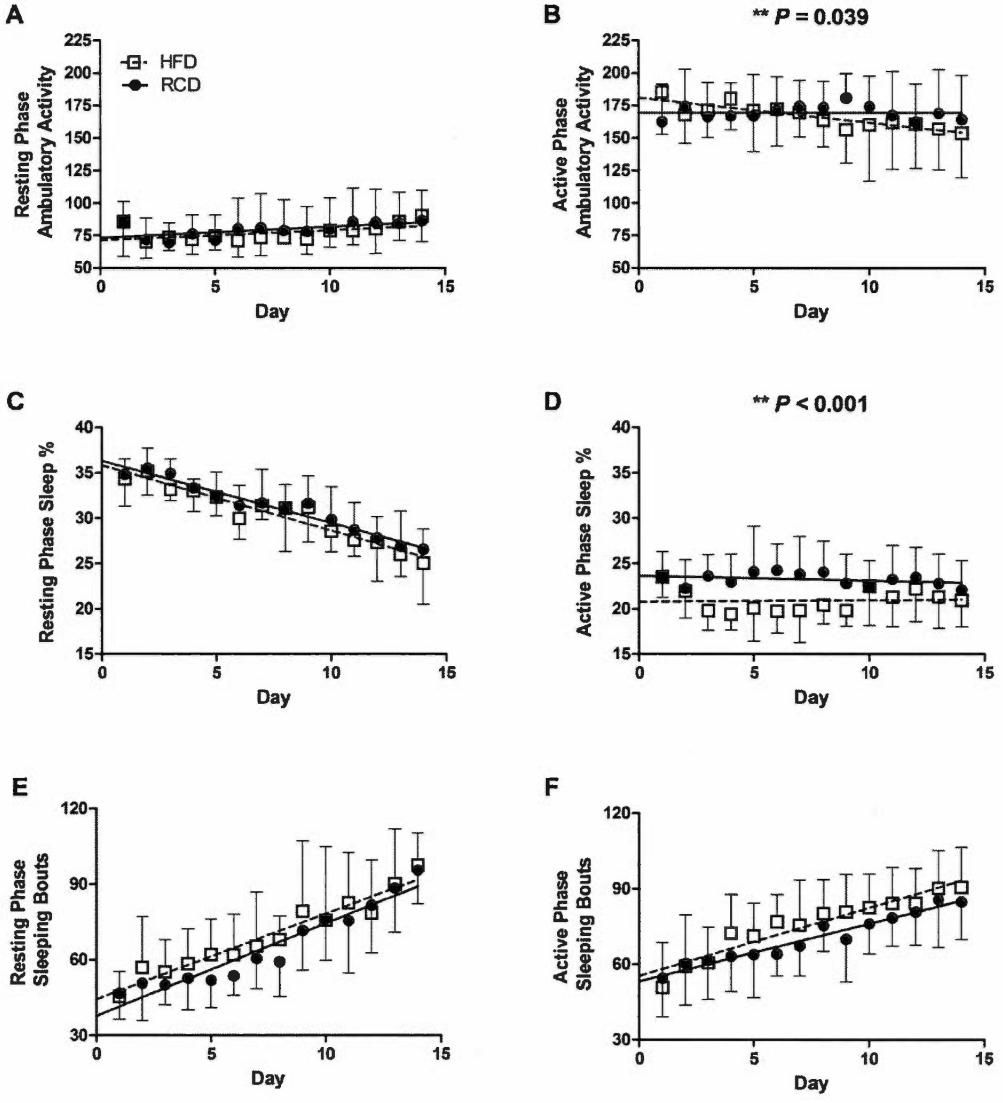

A
HFD
RCD
Resting Phase Ambulatory Activity
Day
B
** P = 0.039
Active Phase Ambulatory Activity
Day
C
Resting Phase Sleep %
Day
D
** P < 0.001
Active Phase Sleep %
Day
E
Resting Phase Sleeping Bouts
Day
F
Active Phase Sleeping Bouts
Day

Figure 5.4

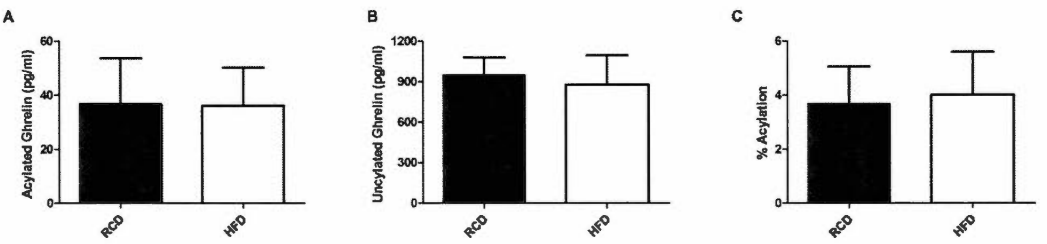

A
Acylated Ghrelin (pg/ml)
60
40
20
0
RCD
HFD
B
Unacylated Ghrelin (pg/ml)
1200
900
600
300
0
RCD
HFD
C
% Acylation
6
4
2
0
RCD
HFD

Figure 5.5

5.12 Figure legends

Figure 5.1 Body weight evolution (A) and average weights for livers, perirenal, epididymal, and subcutaneous abdominal fat pads (B) in young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Results are presented as means ± SD; * indicates significant difference between the two diets ($P<0.05$) using an unpaired Student's *t* test.

Figure 5.2 Total (A-B), resting phase (C) and active phase (D) calorie intake; number of daily feeding bouts (E), average feeding bout duration (F) and weight (G) as well as calories per feeding bout (H) in young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Results are presented as means ± SD; * indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$) and § indicates significant difference from nocturnal value at the $P<0.05$ level using an unpaired Student's *t* test.; ** indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$) and † indicates a significant group x time effect ($P<0.05$) using a mixed linear regression test.

Figure 5.3 Energy expenditure (A) respiratory exchange ratio (RER) (B) and total energy balance (C) values in young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Results are presented as means ± SD; * indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$) and § indicates significant difference from nocturnal value at the $P<0.05$ level using an unpaired Student's *t* test.; ** indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$) using a mixed linear regression test

Figure 5.4 Resting phase (A) and active phase (B) ambulatory activity; resting phase (C) and active phase (D) percent sleeping time; resting phase (E) and active phase (F) sleeping bouts in young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Results are presented as means ± SD; ** indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$) using a mixed linear regression test.

Figure 5.5 Acylated ghrelin (A) and unacylated ghrelin (B) plasma concentrations as well as percentage of acylation (C) in young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Results are presented as means ± SD.

CHAPITRE VI

ALTERED LIPID METABOLISM IMPAIRS SKELETAL MUSCLE FORCE IN YOUNG RATS SUBMITTED TO A SHORT-TERM HIGH-FAT DIET

Auteurs : David E. Andrich, Ya Ou, Lilya Melbouci, Jean-Philippe Leduc-Gaudet, Nickolas Auclair, Jocelyne Mercier, Blandine Secco, Luciane Magri Tomaz, Gilles Gouspillou, Gawiyou Danialou, Alain-Steve Comtois, David H. St-Pierre

Statut : Publié

Journal : Frontiers in Physiology

Mise en contexte: Cet article avait comme objectif de mesurer les effets à court terme d'une diète riche en lipides sur les fonctions musculaires de jeunes rats. Pour ce faire, un muscle oxydatif (soléaire) et un muscle glycolytique (EDL) ont été analysés. Premièrement, la force de contraction spécifique a été mesurée *ex vivo* à l'aide d'un appareil de contractilité. Ensuite, l'analyse du type de fibres musculaires ainsi que de leur aire transversale respective a été effectuée, tout comme la mesure du nombre et de la taille de gouttelettes lipidiques intramyocellulaires. De plus, le contenu de plusieurs protéines impliquées dans la signalisation de l'insuline a été mesuré, tout comme l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides.

6.1 Abstract

Obesity and ensuing disorders are increasingly prevalent in young populations. Prolonged exposure to high-fat diets (HFD) and excessive lipid accumulation were recently suggested to impair skeletal muscle functions in rodents. We aimed to determine the effects of a short-term HFD on skeletal muscle function in young rats. Young male Wistar rats (100–125 g) were fed HFD or a regular chow diet (RCD) for 14 days. Specific force, resistance to fatigue and recovery were tested in extensor digitorum longus (EDL; glycolytic) and soleus (SOL; oxidative) muscles using an ex vivo muscle contractility system. Muscle fiber typing and insulin signaling were analyzed while intramyocellular lipid droplets (LD) were characterized. Expression of key markers of lipid metabolism was also measured. Weight gain was similar for both groups. Specific force was decreased in SOL, but not in EDL of HFD rats. Muscle resistance to fatigue and force recovery were not altered in response to the diets. Similarly, muscle fiber type distribution and insulin signaling were not influenced by HFD. On the other hand, percent area and average size of intramyocellular LDs were significantly increased in the SOL of HFD rats. These effects were consistent with the increased expression of several mediators of lipid metabolism in the SOL muscle. A short-term HFD impairs specific force and alters lipid metabolism in SOL, but not EDL muscles of young rats. This indicates the importance of clarifying the early mechanisms through which lipid metabolism affects skeletal muscle functions in response to obesogenic diets in young populations.

Keywords: high-fat diet, young rats, muscle contractility, lipid droplets, muscle fibers

6.2 Introduction

There are growing concerns regarding the increased prevalence of obesity and ensuing metabolic disorders in young populations (Lobstein et al., 2004). Obese children are highly at risk of developing juvenile insulin resistance (Ong et al., 2004; Huang et al., 2011), type 2 diabetes (Pulgaron and Delamater, 2014) and other health conditions that will deteriorate in later stages of life (Reilly and Kelly, 2011). Poor diet quality and sedentarity are leading causes of childhood obesity (Emmett and Jones, 2015) and the excessive uptake of dietary fats amplifies this phenomenon (McGloin et al., 2002). Under obesogenic conditions, lipids accumulate in adipose tissue as well as in various tissues and organs, such as the liver and skeletal muscles (Tomlinson et al., 2016).

Long-term exposure to obesogenic diets was shown to cause atrophy in different leg muscles in middle-aged mice (Lee et al., 2015). This was also associated to a shift in skeletal muscle fiber type distribution. In mice, an obesogenic diet altered skeletal muscle fiber type distribution toward a glycolytic phenotype in the soleus (Denies et al., 2014) while the opposite effect was observed in the quadriceps (de Wilde et al., 2008). Hence, 12 weeks of HFD significantly changed the composition of fast-twitch fibers and decreased muscle force in adult mice (Eshima et al., 2017). Contractile properties of both fast and slow twitch muscles were also impaired in response to changes in fiber types after only 5 weeks of HFD in mice (Ciapaite et al., 2015). In rats, intramyocellular lipid accumulation and shifts in fiber type distribution occurred after 10 weeks of HFD (Kaneko et al., 2011). Interestingly, a significant increase in intramuscular lipids was noted in response to 2 days of HFD in the red portion of oxidative muscles and after 3–4 days in the white section of glycolytic muscles in young male rats (Bonen et al., 2015). Excessive intramuscular lipid accumulation is also proposed as an important mechanism promoting insulin resistance in the skeletal muscle (Putti et al., 2016). Altogether, this strongly suggests that the onset and

development of intramyocellular lipid infiltration, fiber phenotype remodeling, alteration of contractile properties and insulin resistance follow different timelines in response to HFD in the skeletal muscle. It also appears that the rate at which the deleterious effects of HFD occur and progress is faster in a young population. This notion is paramount, since the early development of obesity-related dysfunctions in children and teenagers is likely to worsen in later stages of life (Guo and Chumlea, 1999; Harris et al., 2006). Hence, the impact of obesogenic diets on the alteration of skeletal muscle functions remains ill-defined in young populations submitted to obesogenic diets. Therefore, the present study intended to unravel the effects of a short-term (14 days) HFD on contractile properties, fiber phenotype, insulin signaling and lipid metabolism in oxidative (soleus; SOL) and glycolytic (*extensor digitorum longus*: EDL) skeletal muscles (Delp and Duan, 1996) of young rats. Thus, we hypothesized that a short-term exposure to an obesogenic diet promotes intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance while decreasing force production and altering fiber type distribution in SOL and EDL muscles.

6.3 Materials and methods

6.3.1 Animal procedures

This study was carried out in strict accordance with recommendations of the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals. Before undergoing the experimental work, the protocol was approved by the *Comité Institutionnel de Protection des Animaux* (CIPA) of UQAM (Permit Number: 0515-R3-759-0516). After a 3-day acclimatization period at UQAM's animal facility, young (100–125 g; ~4 weeks old) male Wistar rats (Charles River, Canada) were randomly allocated to regular chow (RCD; n = 8) or HFD (n = 8) diets for 14 days.

Animals were given free access to food and water and submitted to a 12-h light/dark cycle (6 to 18 h). Rats were individually weighed daily at the same time-period. Sacrifices were performed after a 4 h fast to standardize the feeding status of each animal. In different sets of experiments, skeletal muscles (SOL and EDL) from both legs were collected for assessment of fiber phenotyping, intramyocellular lipid characterization, insulin signaling and gene expression. For the muscle contractility experiments, EDL and SOL muscles were surgically harvested from the left leg for each animal.

6.3.2 Diets

The high fat diet (HFD) was prepared from purified food-grade reagents according to a commercial formulation (D12492 diet, Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, United States) as previously reported (Andrich et al., 2018). It had a physiological fuel value (calculated using a modified Atwater factor) of 20.09 kJ/g (4.80 kcal/g) and a macronutrient weight content of 26.3% carbohydrate (19.2% kJ), 26.2% protein (19% kJ) and 34.9% fat (61.8% kJ). The regular chow diet (Charles River Rodent Diet # 5075, Cargill Animal Nutrition, United States) had a physiological fuel value of 12.09 kJ/g (2.89 kcal/g) and a macronutrient weight content of 55.2% carbohydrate (65.6% kJ), 18% protein (21.4% kJ) and 4.5% fat (13% kJ).

6.3.3 Muscle contractility

The contractility apparatus (1205A, Aurora Scientific, Aurora, ON, Canada) was adjusted before each experiment using calibration weights (10, 20, and 50 g). Rats were anesthetized with isoflurane (induction: 4% and maintenance: 2%) at 1 l/min of O_2. The ex vivo skeletal muscle contractility protocol was adapted from Lynch et al. (2001). A surgical silk suture (size 3.0) was tied to each tendon while preserving the muscle's integrity. The muscle was mounted between two platinum electrodes in a muscle bath containing 50 ml of Krebs solution that was maintained at a temperature

of 30°C and constantly bubbled with 95% O_2 and 5% CO_2 and where, using the silk threads, one end of the muscle tendon was attached to the apparatus and the other end was attached to the servomotor. After a 15 min thermal equilibration period, the length at which maximal force (g) is produced was determined by gradual length adjustments while submitting the muscle to 5 Hz stimulations. Once this optimal length (L_0) was obtained, it was continuously used throughout the experiments. After 15 min of rest, the contractility protocol was initiated by stimulating the muscle at 5, 10, 30, 50, 75, 100, 120, and 150 Hz for 600 ms at each frequency with a 2 min pause between each contraction. After this force-frequency protocol, muscles were rested for 3 min. The fatigue protocol was then initiated by stimulating the EDL (50 Hz) and SOL (75 Hz) muscles every 2 s over a 3 min period. The time necessary to decrease the initial force by 50% was defined as fatigue resistance. After the end of the fatigue period, muscles rested for 3 min before undergoing the recovery protocol. This was performed by submitting the EDL (50 Hz) and SOL (75 Hz) to stimulations every 90 s over a period of 30 min. All variables were calculated using the DMC software (Aurora Scientific, Aurora, ON, Canada) by measuring force, the time between the initiation of the contraction and the maximal force produced (time to maximum) as well as the time necessary to reach 50% of the maximal force (half relaxation time). Once stimulations were completed muscles were carefully cleaned, dried and weighed. Specific force (N/cm^2) was obtained by dividing the muscle force (g) and gravitational acceleration (9.81 m/s^2) product by the estimated muscle cross-sectional area (CSA). The latter was calculated by dividing the muscle's weight (g) by the product of the muscle density (1.06 mg/mm^{-3}) and muscle length (L_0).

6.3.4 Muscle fiber phenotype

To categorize muscle fibers, EDL and SOL muscles (right leg) were collected and cleaned of all adipose and connective tissues. A slice of each muscle's entire middle belly was mounted in tragacanth gum on a cork disk, frozen in liquid nitrogen-cooled

isopentane and stored at -80°C until further use. Muscle cross-sections (8 µm) were cut using a CM1950 cryostat (Leica Biosystems, Wetzlar, Germany), at -18°C and mounted on lysine slides (Superfrost, Thermo Fisher Scientific). Sections were then immunolabeled for the different myosin heavy chains (MHC) as previously described (Goodman et al., 2011). Cross-sections of each muscle sample were immunolabeled for MHC type I, IIa, IIb (cocktail 1), or IIx (cocktail 2), left to reach room temperature, rehydrated with PBS (pH 7.2), blocked using goat serum (10% in PBS) and incubated with the primary antibody cocktail for 1 h. Cross-sections were then washed (3 ×) with PBS, incubated with the secondary antibody cocktail for 1 h, washed (3 ×) with PBS and cover slipped with an antifade liquid mountant (ProLong Gold, Invitrogen, P36930). Primary and secondary antibodies as well as their respective concentration were used as described earlier (Gouspillou et al., 2014). Primary antibodies used for cocktail 1 were: mouse IgG2b monoclonal anti-MHC type I (BA-F8, 1:25), mouse IgG1 monoclonal anti-MHC type IIa (SC-71, 1:200), mouse IgM monoclonal anti-MHC type IIb (BF-F3, 1:200), and rabbit IgG polyclonal anti-laminin (Sigma L9393, 1:750). Primary antibodies used for cocktail 2 were: mouse IgM monoclonal anti-type IIx MHC (6H1, 1:25) and rabbit IgG polyclonal anti-laminin. Secondary antibodies used for cocktail 1 were: Alexa Fluor 350 IgG2b (y2b) goat anti-mouse (Invitrogen, A-21140, 1:500), Alexa Fluor 594 IgG1 (y1) goat anti-mouse (Invitrogen, A-21125, 1:100), Alexa Fluor 488 IgM goat anti-mouse (Invitrogen, A-21042, 1:500) and Alexa Fluor 488 IgG goat anti-rabbit (A-11008, 1:500). Secondary antibodies used for cocktail 2 were: Alexa Fluor 488 IgM goat anti-mouse and Alexa Fluor 488 IgG goat anti-rabbit. All primary antibodies targeting MHCs were purchased from the Developmental Studies Hybridoma Bank (DSHB, University of Iowa, IA, United States).

6.3.5 Western blotting

Insulin receptor signaling was measured following an insulin challenge in rats. After a 6 h fast (from 6 to 12 h), rats were anesthetised and administered with 38 µl/kg insulin (Humulin, Lilly, Canada). After 5 min, SOL and EDL muscles were quickly collected and weighed as previously described (Caron et al., 2017). Briefly, muscle tissues were homogenized in a buffer (50 mM HEPES, pH 7.4, 2 mM EDTA, 10 mM sodium pyrophosphate, 10 mM sodium glycerophosphate, 40 mM NaCl, 50 mM NaF, 2 mM sodium orthovanadate, 1% Triton-X 100, with one tablet of Roche EDTA-free protease inhibitor per 25 ml solution) supplemented with 1% sodium deoxycholate and 0.1% sodium lauryl sulfate. Proteins were extracted and Bradford assays were performed to quantify protein levels. Samples were loaded on 4–12% NuPAGE precast gels or 10% Tris-Glycine Gels (Life Technologies). Proteins were transferred to PVDF membranes blocked in 5% milk diluted in PBS-Tween and incubated overnight with their primary antibody at 4°C. The following antibodies were used: IRS-1 (Cell Signaling Technology, 2382, dilution 1:1000), Akt (Cell Signaling Technology, 4691, dilution 1:1000), phospho-AKT S473 (Cell Signaling Technology, 9271, dilution 1:1000), S6 (Cell Signaling Technology, 2217, dilution 1:2500), phospho-S6 S240/244 (Cell Signaling Technology, 5364, dilution 1:1000) and secondary antibodies were purchased from Cell Signaling Technology (7076S and 7074S) and diluted 1:5000. Amersham ECL Western Blotting Detection Reagent (RPN2106) was used for imaging.

6.3.6 Lipid content

To characterize intramyocellular lipid content in muscles a fluorescent marker of neutral lipids, HCS LipidTOX Green Neutral Lipid Stain (Thermo Fisher, H34475) was used. Muscle cross-sections were fixed in 4% paraformaldehyde (PFA; Sigma-Aldrich, P6148) for 20 min then washed three times in PBS before being incubated with 0.275 µl/ml DAPI in PBS solution (Thermo Fisher, D3571) for 5 min. After

three additional PBS washes samples were incubated for 30 min in a solution containing 1 µl/ml of HCS LipidTOX in PBS. After three further washes with PBS, cross-sections were cover slipped with DABCO (100 mg/ml PBS/ml glycerol with added sodium azide). Imaging was promptly performed.

6.3.7 Slide imaging & image analysis

Sections were imaged on a Nikon TE300 Microscope (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) at UQAM's imaging facility. Frames for analysis using the ImageJ software (NIH, United States) were randomly sampled across each muscle section. For muscle fiber type distribution, 400 individual fibers were traced on average. Fiber cross-sectional area and MHC type(s) were determined for each individual fiber. For lipid content, an average of 170 fibers were analyzed per cross-section. The number of lipid droplet (LD) per muscle fiber, % of fiber area covered by lipids and LD cross-sectional area (CSA) were measured. Lipid droplets with a CSA larger than 0.2 μm^2 were considered as large lipid droplets.

6.3.8 RT-qPCR

Samples were incubated in RNAlater (Ambion) and stored at -20°C for later use. Muscles (15–60 mg) were homogenized in 1 ml of TRIzol Reagent (Ambion) with a TissueLyser II homogenizer (QIAGEN) and extracted according to the manufacturer's instructions. Samples were further processed using the PureLink RNA Mini Kit (Ambion) and contaminating DNA was removed via DNase on-column digestion. RNA concentrations and purity were determined by the ratio of absorbance at 260 and 280 nm (BioDrop). RNA integrity was evaluated by visualization of intact 18S and 28S RNA bands following agarose gel electrophoresis. SuperScript VILO Master Mix (Invitrogen) was used to synthesize cDNA with 1 µg of RNA per 20 µl reaction. Real-time PCR reactions were performed in triplicate using 384-well plates in the QuantStudio 6 system (Life Technologies) with SYBR Select Master Mix kit

(Applied Biosystems). Reaction conditions consisted of 2 µl of a 1:10 cDNA dilution and 0.3 µM primers in a final volume of 10 µl. The following cycling protocol was used: 2 min at 50°C, 2 min at 95°C followed by 40 cycles of 15 s at 95°C, 15 s at 58°C, and 1 min at 72°C. The reaction's specificity was verified with a melting curve analysis. Negative RT controls and no template controls (NTC) were included in the PCR runs. Reference genes were identified by running a TaqMan Array Rat Endogenous Control Plates (Applied Biosystems) with 3 samples for each group. Out of the 22 genes, the four with the best gene expression stability (Expression Suite, Applied Biosystems) were selected for normalization: PUM1, PGK1, PSMC4, and RPL30 for the EDL and PGK1, RPL30, PPIB, and PUM1 for the SOL. Primers used (Table 1) were designed using Primer-BLAST (NCBI). A standard curve obtained by scalar dilution of a cDNA pool was generated to verify PCR efficiency. Normalized and relative amounts of mRNA were calculated using the qbase+ (Biogazelle) software and presented as the fold change of the HFD group compared to the RCD group using the ΔΔCT method.

6.3.9 Statistical analyses

Sample sizes were calculated as recommended (Charan and Kantharia, 2013) using data from previously published studies as well as our own pilot studies using power set at 0.8 (80%) and significance set at $P < 0.05$. All values are presented as means ± SD, except where specified. Distributions' normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Two-tailed unpaired Student's t-tests were used to compare values between the two groups. Mann-Whitney U tests were used to compare values between both groups when data did not meet assumptions of parametric testing. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, United States) and SAS Studio 3.5 (SAS Institute, Cary, NC, United States) softwares.

6.4 Results

As previously reported by our group, no difference in body weight was noted between HFD and RCD rats (Andrich et al., 2018). Further, the muscle weight and CSA of the EDL and SOL muscles were similar in both groups (Table 2). Contractility tests showed a significant decrease in specific force production for the SOL muscle of rats submitted to HFD ($P = 0.014$; Figure 1A). Force production of the EDL was similar for both groups ($P = 0.125$; Figure 1B). The obesogenic diet did not induce any difference in resistance to fatigue (Figure 1C), muscle recovery to fatigue (Figure 1D), maximum contraction (Figure 1E) and half relaxation time (Figure 1F) for EDL and SOL muscles in young rats. This indicates that contraction and relaxation rates were unaltered by HFD and both oxidative and glycolytic muscles maintained their distinct contraction profiles. The mass of EDL and SOL muscles was also similar in both groups (Figure 1G).

Areas (Figures 2A,B) and the proportion (Figures 2C–F) of different fiber types were similar for both SOL and EDL muscles in HFD and RCD groups, indicating that decrease in specific force observed in SOL is not due to a shift in muscle fiber type distribution.

In response to the diets, levels of insulin receptor signaling mediators IRS-1, AKT, phospho-AKT, S6 and phospho-S6 were not modulated in the EDL or SOL muscles (Figures 3A–C). This indicates that insulin receptor signaling was unaffected by the obesogenic diet after 2 weeks.

In HFD rats, average LD numbers per muscle fiber were not changed in SOL or EDL muscles (Figure 4A). However, the average size of LDs (cross-sectional area; CSA) was significantly larger in SOL muscles of HFD rats ($P = 0.015$; Figures 4B,E–H) but this effect was not detected in EDL muscles. Further, large LDs were found in higher

proportion in SOL (P = 0.024; Figure 4C) but not EDL (P = 0.024; Figure 4C) muscles of HFD rats. Percent LD area per fiber was similar in SOL and EDL muscles for both treatment groups (Figure 4D). Overall, these results suggest that larger LDs impair force production mechanisms in SOL muscles of rats treated with HFD.

In SOL muscles (Figure 5A), the expression of CD36 (~68%; P < 0.001), CEBPB (~56%; P = 0.006), DGAT1 (~74%; P < 0.001), DGAT2 (~84%; P = 0.002), LPL (~38%; P = 0.020), and PPARG (~43%; P = 0.002) genes was significantly increased in HFD rats. In turn, the expression of CD36 (~72%; P < 0.001) and DGAT1 (~33%; P = 0.004) was also higher in EDL muscles of the HFD group (Figure 5B). This indicates that the transcription of genes involved in adipogenic maturation (PPARγ and C/EBPβ), intracellular lipid uptake (CD36), triacylglycerol synthesis (DGAT1 and DGAT2) and extracellular lipolysis (LPL) is upregulated in response to a short-term HFD in SOL muscles.

6.5 Discussion

The present study intended to clarify the effects of a short-term 14 days HFD on a host of functions in oxidative and glycolytic skeletal muscles. The major findings are that, in response to the short-term HFD, oxidative SOL muscles produced significantly less specific force and had larger intramyocellular LDs. Further, the expression of key mediators of lipid metabolism involved in adipogenic maturation, intracellular lipid uptake, triacylglycerol synthesis and extracellular lipolysis is upregulated in SOL muscles of HFD rats. However, only the expression of CD36 and DGAT1 was upregulated in the EDL. Consequently, it appears that modifications in the intrinsic nature of LDs impair the contractile force in a skeletal muscle with oxidative properties. It is noteworthy that these effects even precede alterations in

skeletal muscle fiber type distribution and insulin receptor signaling. Thus, to our knowledge and relevant to the originality of the present work, no other studies integrating mechanistic and functional muscle physiology, such as specific force, resistance to fatigue and recovery, fiber phenotyping, insulin receptor signaling, LD characterization and the expression of several mediators of lipid metabolism in young rats subjected to a HFD for only 14 days have been identified.

The present results show that skeletal muscle fiber type distribution is not affected by a short-term HFD in young rats. This was primarily investigated since maximal specific force is largely dependent of fiber type distribution (Eddinger and Moss, 1987; Ranatunga and Thomas, 1990) and myosin heavy chain content in the skeletal muscle (Geiger et al., 2000). It was previously suggested that obesogenic diets decrease force by inducing a remodeling of skeletal muscle fibers (Ciapaite et al., 2015; Lee et al., 2015; Eshima et al., 2017). However, our results are supported by the fact that impairments in SOL specific force were not associated with changes in fiber typing in mice submitted to 5 weeks of HFD (Ciapaite et al., 2015). Interestingly, the same group observed changes in lipid composition and mitochondrial functions in EDL, but not in SOL. Our results show that larger LDs were observed in SOL, but not in EDL muscles; these discrepancies could be explained by differences in the experimental model, namely by the age and the species tested. Further, we have recently reported that 14 days of HFD significantly increase palmitic acid utilization while altering the expression of genes involved in the regulation of mitochondrial dynamics in both oxidative and glycolytic muscles of young rats (Leduc-Gaudet et al., 2018). Interestingly our results obtained with the same model show a decline in ambulatory activity in response to the short-term HFD (Andrich et al., 2018). This suggests that in response to obesogenic diets, skeletal muscle impairments could play a role in the etiology of sedentary behaviors in young rats. Otherwise, impairments in specific skeletal muscle force have been mainly observed after submitting rodents to HFD for longer time periods (Lee et al., 2015;

Eshima et al., 2017). On the other hand, the role of intramyocellular lipids in muscular force was previously suggested in young and elderly human subjects, in which force production of the vastus lateralis negatively correlated with intramuscular lipids measured by MRI (Hioki et al., 2016). Similarly, using biopsies from elderly obese or normal-weight participants, altered contractile functions were observed in single muscle fibers containing high levels of intramyocellular lipids (Choi et al., 2016). It is noteworthy that other co-factors should be considered when investigating skeletal muscle functions in elderly populations. Indeed, collagen accumulations decrease muscle elasticity (Kragstrup et al., 2011) and motor unit array compression (Yoshida et al., 2012) and these factors are suggested to be main contributors promoting impairments in muscle quality in aged individuals. Such age-related alterations of skeletal muscle parameters can be excluded in the present study. However, skeletal muscle alterations would likely be amplified in aged rats chronically submitted to HFD. Hence, this emphasizes the important role of enhanced intramyocellular lipid accumulation in the impairment of force production in SOL muscles of young individuals.

Another potential mechanism through which muscular force can be impaired involves delayed myoplasmic calcium clearance (Summermatter et al., 2012). This effect was observed in response to PGC1α overexpression in mice and was associated with reduced maximal force, increased resistance to fatigue and fiber type remodeling in the EDL muscle. The overexpression of PGC1α also promoted a fiber-type switch from a glycolytic toward a more oxidative phenotype in mice (Lin et al., 2002). In line with our previous work (Leduc-Gaudet et al., 2018), we could not observe any difference in the expression of PGC1α, suggesting that mitochondrial biogenesis is not altered in SOL or EDL muscles in response to our short-term HFD. Overexpression of PPARγ was also observed in the SOL muscle. This factor is a key player in adipocyte differentiation and metabolism; it has been suggested as a promoter of insulin resistance under a high fat diet via its role in adipocyte

hypertrophy (Kubota et al., 1999), although its role differs in skeletal muscle (Kintscher and Law, 2005). The expression of C/EBPβ was also positively modulated in SOL muscles of HFD rats. However, the increased C/EBPβ expression in leukocyte-derived RNA samples were previously associated with increased muscle strength in humans (Harries et al., 2012) and enhanced satellite self-renewal leading to muscle regeneration in mice (Lala-Tabbert et al., 2016). Conversely, C/EBPβ is also involved in the process through which pre-adipocytes are differentiated toward a mature adipocyte phenotype (Tanaka et al., 1997). Thus, it is appealing to postulate that the modulatory effect of C/EBPβ on skeletal muscle force could be indirect, via its adipogenic effects or capacity to promote cell differentiation. Based on the present results, this hypothesis should be validated primarily in oxidative muscles since the expression of C/EBPβ was only positively modulated in SOL muscles of rats submitted to HFD.

In response to HFD, intramyocellular lipid accumulation is highly muscle-dependent. Although it is still debatable in mouse models, rat SOL muscles are more prone to accumulate excessive amounts of intramuscular lipids (Shortreed et al., 2009; Kaneko et al., 2011; Campbell et al., 2015; Ciapaite et al., 2015; Komiya et al., 2017). The method used here to measure lipid droplets excluded both intermuscular and myocyte membrane areas. We determined that in rat SOL muscles submitted to HFD, LDs are larger but their number is not increased. Intramyocellular LDs are an important energy substrate pool for β-oxidation in the exercising skeletal muscle, especially in the oxidative type I fibers (van Loon et al., 2003). However, large LDs are not as efficient as smaller droplets for lipid mobilization and turnover, having more of a storage function (Murphy, 2002). Indeed, smaller LDs provide a larger surface area-to-volume ratio, thus favoring lipolysis (Mak, 2012). Intramyocellular lipid accumulation has previously been linked to altered muscle force in mice, independently of mitochondrial oxidative phosphorylation and fiber type (Nunes et al., 2012). The same study hypothesized that large lipid droplets could mechanically

impair contraction in the muscle filaments. Further, a mathematical modeling framework simulating intramuscular fat accumulation also suggested mechanical alterations of the muscle as being responsible for diminished force (Rahemi et al., 2015). Indeed, intramuscular lipid could increase the stiffness of the base-material properties affecting fiber shortening and lateral expansion. As mentioned earlier, larger lipid droplets are more prone to induce structural changes leading to these mechanical alterations. Additional characterization of intermyocellular lipid droplets size, number and distribution could add weight to this hypothesis. In the present study, we also observed increased expression of LPL, CD36, DGAT1 and DGAT2. These factors play a critical role in lipid metabolism in the skeletal muscle. For instance, upregulation of LPL could promote the hydrolysis of extracellular triacylglycerol (TAG) into non-esterified fatty acids (NEFA) (Wang and Eckel, 2009). Higher CD36 expression could also stimulate intracellular uptake of NEFA while DGAT1 and DGAT2 would potentiate their re-esterification into TAG as well as their storage in LDs (Jeong et al., 2012). Mediators of intracellular lipid transport, TAG synthesis, LD formation, stabilization and lipolysis appear as attractive targets to clarify the present results and they will require more attention in further studies.

The present results suggest that the effects of HFD on SOL muscle specific force are not mediated through impairments of insulin receptor signaling. This is supported by the observation that the development of insulin resistance and impaired glucose transport are delayed in response to early lipid accumulations in rat skeletal muscle (Bonen et al., 2015). However, the association between intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance is well-documented (Phillips et al., 1996; Pan et al., 1997). Hence, it was suggested that LD size in the subsarcolemmal space has a major incidence on the onset of insulin resistance in humans (Nielsen et al., 2017). Also, it was recently suggested that impaired insulin resistance would not occur in response to increased myocellular lipid contents but rather to larger LDs. Other alterations in lipid metabolism, fatty acid oxidation, lipid storage as well as in the

activity of LD coat proteins could also have a greater incidence on insulin resistance than absolute lipid levels per se (Bosma, 2016). It is likely that young rats display greater metabolic flexibility than older animals and, therefore, a 14-day HFD treatment is too short to induce insulin resistance.

Results presented herein demonstrate that a short-term high fat diet alters specific force in SOL muscles of young rats. This effect cannot be attributed to a remodeling of the muscle fiber phenotype or to impairments in insulin receptor signaling. Further, 2 weeks of HFD induced significant increases in LD size in SOL muscles. This suggests the existence of a causal link between larger LDs and the reduction of specific force in oxidative skeletal muscles. Further studies are needed to clarify the role of distinct lipid species and their trafficking as mediators of LD formation and stabilization, mitochondrial functions, oxidative stress and inflammation in the regulation of skeletal muscle functions in young growing rats.

6.6 Data availability

The raw data supporting the conclusion of this manuscript will be made available by the authors, without undue reservation, to any qualified researcher.

6.7 Author contributions

DA contributed to manuscript writing, experiments, data treatment, statistical analyses, tables, and figures. YO, LM, J-PL-G, NA, JM, BS, and LT contributed to experiments and manuscript revision. GG, GD, and A-SC contributed to study design and manuscript revision. DS-P contributed to study design, experiments, and manuscript writing. All authors contributed to manuscript revision and read and approved the submitted version.

6.8 Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

6.9 Acknowledgments

The authors would like to acknowledge Mathieu Laplante, Ph.D., for his contributions. The authors would like to thank statistician Jill Vandermeerschen for her expertise.

6.10 Footnotes

Funding. DS-P was funded by a NSERC Discovery Grant #418509-2012 and his salary support was provided by a FQRS *Chercheur Boursier Junior 1 Award.*

6.11 References

1. Andrich D. E., Melbouci L., Ou Y., Leduc-Gaudet J. P., Chabot F., Lalonde F., et al. (2018). Altered feeding behaviors and adiposity precede observable weight gain in young rats submitted to a short-term high-fat diet. J. Nutr. Metab. 2018:1498150. 10.1155/2018/1498150

2. Bonen A., Jain S. S., Snook L. A., Han X. X., Yoshida Y., Buddo K. H., et al. (2015). Extremely rapid increase in fatty acid transport and intramyocellular lipid accumulation but markedly delayed insulin resistance after high fat feeding in rats. Diabetologia 58 2381–2391. 10.1007/s00125-015-3691-8

3. Bosma M. (2016). Lipid droplet dynamics in skeletal muscle. Exp. Cell Res. 340 180–186. 10.1016/j.yexcr.2015.10.023

4. Campbell T. L., Mitchell A. S., McMillan E. M., Bloemberg D., Pavlov D., Messa I., et al. (2015). High-fat feeding does not induce an autophagic or apoptotic phenotype in female rat skeletal muscle. Exp. Biol. Med. 240 657–668. 10.1177/1535370214557223

5. Caron A., Mouchiroud M., Gautier N., Labbe S. M., Villot R., Turcotte L., et al. (2017). Loss of hepatic DEPTOR alters the metabolic transition to fasting. Mol. Metab. 6 447–458. 10.1016/j.molmet.2017.02.005

6. Charan J., Kantharia N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? J. Pharmacol. Pharmacother. 4 303–306. 10.4103/0976-500X.119726

7. Choi S. J., Files D. C., Zhang T., Wang Z. M., Messi M. L., Gregory H., et al. (2016). Intramyocellular lipid and impaired myofiber contraction in normal weight

and obese older adults. J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 71 557–564. 10.1093/gerona/glv169

8. Ciapaite J., van den Berg S. A., Houten S. M., Nicolay K., van Dijk K. W., Jeneson J. A. (2015). Fiber-type-specific sensitivities and phenotypic adaptations to dietary fat overload differentially impact fast- versus slow-twitch muscle contractile function in C57BL/6J mice. J. Nutr. Biochem. 26 155–164. 10.1016/j.jnutbio.2014.09.014

9. de Wilde J., Mohren R., van den Berg S., Boekschoten M., Dijk K. W., de Groot P., et al. (2008). Short-term high fat-feeding results in morphological and metabolic adaptations in the skeletal muscle of C57BL/6J mice. Physiol. Genomics 32 360–369. 10.1152/physiolgenomics.00219.2007

10. Delp M. D., Duan C. (1996). Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. J. Appl. Physiol. 80 261–270. 10.1152/jappl.1996.80.1.261

11. Denies M. S., Johnson J., Maliphol A. B., Bruno M., Kim A., Rizvi A., et al. (2014). Diet-induced obesity alters skeletal muscle fiber types of male but not female mice. Physiol. Rep. 2:e00204. 10.1002/phy2.204

12. Eddinger T. J., Moss R. L. (1987). Mechanical properties of skinned single fibers of identified types from rat diaphragm. Am. J. Physiol. 253(2 Pt 1) C210–C218.

13. Emmett P. M., Jones L. R. (2015). Diet, growth, and obesity development throughout childhood in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. Nutr. Rev. 73(Suppl. 3) 175–206. 10.1093/nutrit/nuv054

14. Eshima H., Tamura Y., Kakehi S., Kurebayashi N., Murayama T., Nakamura K., et al. (2017). Long-term, but not short-term high-fat diet induces fiber composition changes and impaired contractile force in mouse fast-twitch skeletal muscle. Physiol. Rep. 5:e13250. 10.14814/phy2.13250

15. Geiger P. C., Cody M. J., Macken R. L., Sieck G. C. (2000). Maximum specific force depends on myosin heavy chain content in rat diaphragm muscle fibers. J. Appl. Physiol. 89 695–703.

16. Goodman C. A., Mabrey D. M., Frey J. W., Miu M. H., Schmidt E. K., Pierre P., et al. (2011). Novel insights into the regulation of skeletal muscle protein synthesis as revealed by a new nonradioactive in vivo technique. FASEB J. 25 1028–1039. 10.1096/fj.10-168799

17. Gouspillou G., Sgarioto N., Norris B., Barbat-Artigas S., Aubertin-Leheudre M., Morais J. A., et al. (2014). The relationship between muscle fiber type-specific PGC-1alpha content and mitochondrial content varies between rodent models and humans. PLoS One 9:e103044. 10.1371/journal.pone.0103044

18. Guo S. S., Chumlea W. C. (1999). Tracking of body mass index in children in relation to overweight in adulthood. Am. J. Clin. Nutr. 70 145S–148S.

19. Harries L. W., Pilling L. C., Hernandez L. D., Bradley-Smith R., Henley W., Singleton A. B., et al. (2012). CCAAT-enhancer-binding protein-beta expression in vivo is associated with muscle strength. Aging Cell 11 262–268. 10.1111/j.1474-9726.2011.00782.x

20. Harris K. M., Gordon-Larsen P., Chantala K., Udry J. R. (2006). Longitudinal trends in race/ethnic disparities in leading health indicators from adolescence to

young adulthood. Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 160 74–81. 10.1001/archpedi.160.1.74

21. Hioki M., Kanehira N., Koike T., Saito A., Takahashi H., Shimaoka K., et al. (2016). Associations of intramyocellular lipid in vastus lateralis and biceps femoris with blood free fatty acid and muscle strength differ between young and elderly adults. Clin. Physiol. Funct. Imaging 36 457–463. 10.1111/cpf.12250.

22. Huang J. S., Gottschalk M., Norman G. J., Calfas K. J., Sallis J. F., Patrick K. (2011). Compliance with behavioral guidelines for diet, physical activity and sedentary behaviors is related to insulin resistance among overweight and obese youth. BMC Res. Notes 4:29. 10.1186/1756-0500-4-29

23. Jeong J., Kwon E. G., Im S. K., Seo K. S., Baik M. (2012). Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers. J. Anim. Sci. 90 2044–2053. 10.2527/jas.2011-4753

24. Kaneko S., Iida R. H., Suga T., Fukui T., Morito M., Yamane A. (2011). Changes in triacylglycerol-accumulated fiber type, fiber type composition, and biogenesis in the mitochondria of the soleus muscle in obese rats. Anat. Rec. 294 1904–1912. 10.1002/ar.21472

25. Kintscher U., Law R. E. (2005). PPARgamma-mediated insulin sensitization: the importance of fat versus muscle. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 288 E287–E291. 10.1152/ajpendo.00440.2004

26. Komiya Y., Sawano S., Mashima D., Ichitsubo R., Nakamura M., Tatsumi R., et al. (2017). Mouse soleus (slow) muscle shows greater intramyocellular lipid droplet

accumulation than EDL (fast) muscle: fiber type-specific analysis. J. Muscle Res. Cell Motil. 38 163–173. 10.1007/s10974-017-9468-6

27. Kragstrup T. W., Kjaer M., Mackey A. L. (2011). Structural, biochemical, cellular, and functional changes in skeletal muscle extracellular matrix with aging. Scand. J. Med. Sci. Sports 21 749–757. 10.1111/j.1600-0838.2011.01377.x

28. Kubota N., Terauchi Y., Miki H., Tamemoto H., Yamauchi T., Komeda K., et al. (1999). PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. Mol. Cell. 4 597–609.

29. Lala-Tabbert N., AlSudais H., Marchildon F., Fu D., Wiper-Bergeron N. (2016). CCAAT/enhancer binding protein beta is required for satellite cell self-renewal. Skelet. Muscle 6:40. 10.1186/s13395-016-0112-8

30. Leduc-Gaudet J. P., Reynaud O., Chabot F., Mercier J., Andrich D. E., St-Pierre D. H., et al. (2018). The impact of a short-term high-fat diet on mitochondrial respiration, reactive oxygen species production, and dynamics in oxidative and glycolytic skeletal muscles of young rats. Physiol. Rep. 6:e13548. 10.14814/phy2.13548

31. Lee S. R., Khamoui A. V., Jo E., Park B. S., Zourdos M. C., Panton L. B., et al. (2015). Effects of chronic high-fat feeding on skeletal muscle mass and function in middle-aged mice. Aging Clin. Exp. Res. 27 403–411. 10.1007/s40520-015-0316-5

32. Lin J., Wu H., Tarr P. T., Zhang C. Y., Wu Z., Boss O., et al. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. Nature 418 797–801. 10.1038/nature00904

33. Lobstein T., Baur L., Uauy R. IASO International Obesity TaskForce. (2004). Obesity in children and young people: a crisis in public health. Obes. Rev. 5(Suppl. 1) 4–104. 10.1111/j.1467-789X.2004.00133.x

34. Lynch G. S., Hinkle R. T., Chamberlain J. S., Brooks S. V., Faulkner J. A. (2001). Force and power output of fast and slow skeletal muscles from mdx mice 6-28 months old. J. Physiol. 535(Pt 2) 591–600.

35. Mak H. Y. (2012). Lipid droplets as fat storage organelles in Caenorhabditis elegans: thematic review series: lipid droplet synthesis and metabolism: from yeast to man. J. Lipid Res. 53 28–33. 10.1194/jlr.R021006

36. McGloin A. F., Livingstone M. B., Greene L. C., Webb S. E., Gibson J. M., Jebb S. A., et al. (2002). Energy and fat intake in obese and lean children at varying risk of obesity. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 26 200–207. 10.1038/sj.ijo.0801883

37. Murphy D. J. (2002). The dynamic roles of intracellular lipid droplets: from archaea to mammals. Protoplasma 249 541–585. 10.1007/s00709-011-0329-7

38. Nielsen J., Christensen A. E., Nellemann B., Christensen B. (2017). Lipid droplet size and location in human skeletal muscle fibers are associated with insulin sensitivity. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 313 E721–E730. 10.1152/ajpendo.00062.2017

39. Nunes P. M., van de Weijer T., Veltien A., Arnts H., Hesselink M. K., Glatz J. F., et al. (2012). Increased intramyocellular lipids but unaltered in vivo mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle of adipose triglyceride lipase-deficient mice. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 303 E71–E81. 10.1152/ajpendo.00597.2011

40. Ong K. K., Petry C. J., Emmett P. M., Sandhu M. S., Kiess W., Hales C. N., et al. (2004). Insulin sensitivity and secretion in normal children related to size at birth, postnatal growth, and plasma insulin-like growth factor-I levels. Diabetologia 47 1064–1070. 10.1007/s00125-004-1405-8

41. Pan D. A., Lillioja S., Kriketos A. D., Milner M. R., Baur L. A., Bogardus C., et al. (1997). Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. Diabetes 46 983–988.

42. Phillips D. I., Caddy S., Ilic V., Fielding B. A., Frayn K. N., Borthwick A. C., et al. (1996). Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. Metabolism 45 947–950.

43. Pulgaron E. R., Delamater A. M. (2014). Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment. Curr. Diab. Rep 14:508. 10.1007/s11892-014-0508-y

44. Putti R., Migliaccio V., Sica R., Lionetti L. (2016). Skeletal muscle mitochondrial bioenergetics and morphology in high fat diet induced obesity and insulin resistance: focus on dietary fat source. Front. Physiol. 6:426. 10.3389/fphys.2015.00426

45. Rahemi H., Nigam N., Wakeling J. M. (2015). The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. J. R. Soc. Interface 12:20150365. 10.1098/rsif.2015.0365

46. Ranatunga K. W., Thomas P. E. (1990). Correlation between shortening velocity, force-velocity relation and histochemical fibre-type composition in rat muscles. J. Muscle Res. Cell Motil. 11 240–250.

47. Reilly J. J., Kelly J. (2011). Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. Int. J. Obes. 35 891–898. 10.1038/ijo.2010.222

48. Shortreed K. E., Krause M. P., Huang J. H., Dhanani D., Moradi J., Ceddia R. B., et al. (2009). Muscle-specific adaptations, impaired oxidative capacity and maintenance of contractile function characterize diet-induced obese mouse skeletal muscle. PLoS One 4:e7293. 10.1371/journal.pone.0007293

49. Summermatter S., Thurnheer R., Santos G., Mosca B., Baum O., Treves S., et al. (2012). Remodeling of calcium handling in skeletal muscle through PGC-1alpha: impact on force, fatigability, and fiber type. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 302 C88–C99. 10.1152/ajpcell.00190.2011

50. Tanaka T., Yoshida N., Kishimoto T., Akira S. (1997). Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. EMBO J. 16 7432–7443. 10.1093/emboj/16.24.7432

51. Tomlinson D. J., Erskine R. M., Morse C. I., Winwood K., Onambele-Pearson G. (2016). The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. Biogerontology 17 467–483. 10.1007/s10522-015-9626-4

52. van Loon L. J., Koopman R., Stegen J. H., Wagenmakers A. J., Keizer H. A., Saris W. H. (2003). Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance-trained males in a fasted state. J. Physiol. 553(Pt 2) 611–625. 10.1113/jphysiol.2003.052431

53. Wang H., Eckel R. H. (2009). Lipoprotein lipase: from gene to obesity. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 297 E271–E288. 10.1152/ajpendo.90920.2008

54. Yoshida Y., Marcus R. L., Lastayo P. C. (2012). Intramuscular adipose tissue and central activation in older adults. Muscle Nerve 46 813–816. 10.1002/mus.23506

6.12 Tables

Table 6.1: Primers used for quantitative real-time PCR

Gene	Forward/reverse primers
ACCα (ACACA)	GAAGTGACTGACTCCAGGACAG GGTCTTTGGTCACATACGGAGT
ACSS2	ACTTGGCGACAAAGTTGCTTTT TCTGAACACCCTGTTTACGGAG
α-actinin-3 (ACTN3)	TTCAACCACTTTGACCGGAAGC TGGTCATGATCCGAGCAAACTC
CD36	GCCAGCTAGAAAAATAGAAGCACT CATTTCTGCTTTCTCATCGCCG
C/EBPα (CEBPA)	GCCAAGAAGTCGGTGGATAAGA TTGTCACTGGTCAACTCCAACA
C/EBPβ (CEBPB)	CTGAGCGACGAGTACAAGATGC CTTCTTCTGCAGCCGCTCGTTC
DGAT1	ACATTTCAGATTGAGAAGCGCC GGAACCCACTGGAGTGATAGAC
DGAT2	CCAAGAAAGGTGGCAGGAGAT CCATGGGGATGGTATCCAAAGA
aP2 (FABP4)	CCCCAGATGACAGGAAAGTGAA GCCTTTCATGACACATTCCACC
FAS (FASN)	CTGGCCATGGTTTTAAGGGATG GAGAAGGCCACAAAGTAGTCCA
GLUT4 (SLC2A4)	TGGTCTCGGTGCTCTTAGTAGA ATAACTCATGGATGGAACCCGC
LPL	GAAAGCCGGAGAGACTCAGAAA TGTTGGTTTGTCCAGTGTCAGC
MYL1	ACTCCAATGGCTGCATCAACTA CAAGCTGGTGTTGACAGTTAGC
Myogenin (MYOG)	GCCGGTGGTACCCAGTGAA GATGGACGTAAGGGAGTGCAG
PGK1	AACAAGCTGACTTTGGACAAGC AGCAGCCTTGATCCTTTGGTTA
PPARγ (PPARG)	GAAGAGCCTTCAAACTCCCTCA GCTTCAATCGGATGGTTCTTCG
PGC-1α (PPARGC1A)	AGAGTCACCAAATGACCCCAAG TTGGCTTTATGAGGAGGAGTCG
PPIB	ACAGGAGAGAAAGGATTTGGCTA CGCTCACCATAGATGCTCTTTC
PSMC4	GCTCTACAAGCAGATTGGCATC TCTGAACAAACTCTGAGCCCAC

Pumilio homolog 1 (PUM1)	GAACACCAGGTGCGCTCTAT CCTTTTGGTCCATCTTTGCTGG
60S ribosomal protein L30 (RPL30)	TGGCTGCAAAGAAGACGAAAAA AACCAATTTCGCTTTGCCTTGT
SLC27A4	CACTCAGCAGGAAACATTGTGG GGCAAAGCTCACCAATGTACTG

Table 6.2: Biometric parameters of RCD and HFD rats.

	RCD	HFD	*p*
Body Weight Day 1 (g)	152.69 ± 19.33	156.77 ± 18.79	.686
Body Weight Day 14 (g)	295.03 ± 25.02	290.60 ± 12.04	.666
Body Weight Gain (g)	142.34 ± 14.94	133.83 ± 11.27	.241
SOL Weight (mg)	128.00 ± 4.81	131.15 ± 12.88	.533
EDL Weight (mg)	123.11 ± 10.59	128.54 ± 6.72	.242
SOL CSA (mm^2)	4.49 ± 0.43	4.95 ± 5.90	.102
EDL CSA (mm^2)	3.89 ± 0.58	4.39 ± 0.45	.079

Means ± SD. RCD: regular chow diet; HFD: high fat diet

6.13 Figures

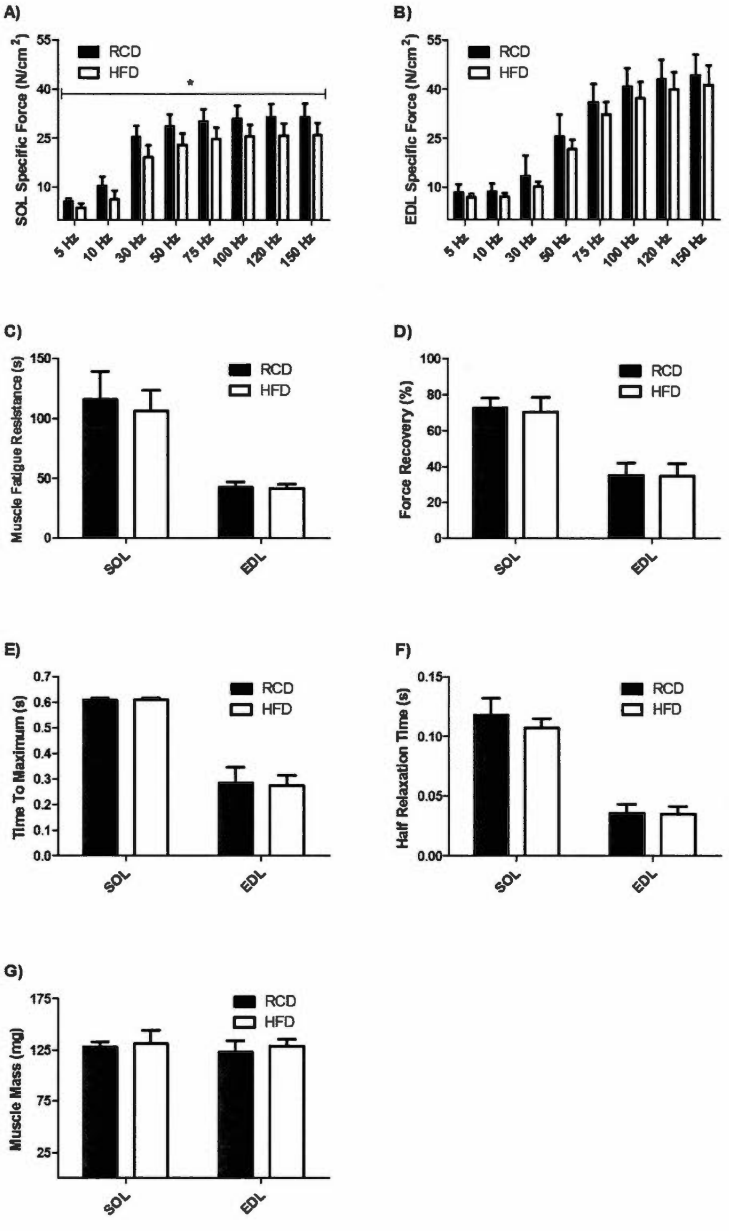


Figure 6.1

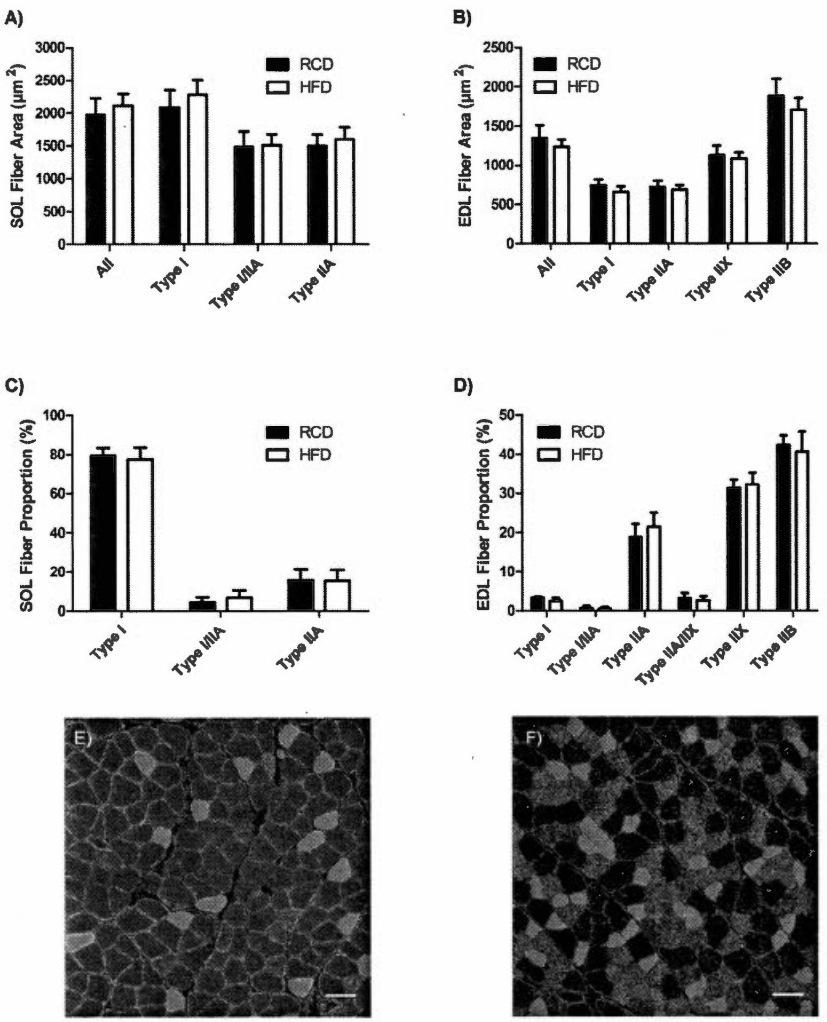

A)
SOL Fiber Area (μm²)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
RCD
HFD
All
Type I
Type I/IIA
Type IIA
B)
EDL Fiber Area (μm²)
2500
2000
1500
1000
500
0
RCD
HFD
All
Type I
Type IIA
Type IIX
Type IIB
C)
SOL Fiber Proportion (%)
100
80
60
40
20
0
RCD
HFD
Type I
Type I/IIA
Type IIA
D)
EDL Fiber Proportion (%)
50
40
30
20
10
0
RCD
HFD
Type I
Type I/IIA
Type IIA
Type IIA/IIX
Type IIX
Type IIB
E)
F)

Figure 6.2

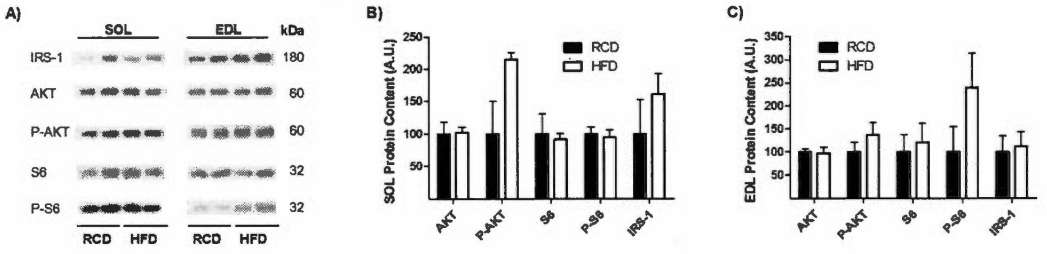

A)
SOL
EDL
kDa
IRS-1
AKT
P-AKT
S6
P-S6
180
60
60
32
32
RCD
HFD
RCD
HFD
B)
SOL Protein Content (A.U.)
250
200
150
100
50
RCD
HFD
AKT
P-AKT
S6
P-S6
IRS-1
C)
EDL Protein Content (A.U.)
350
300
250
200
150
100
50
RCD
HFD
AKT
P-AKT
S6
P-S6
IRS-1

Figure 6.3

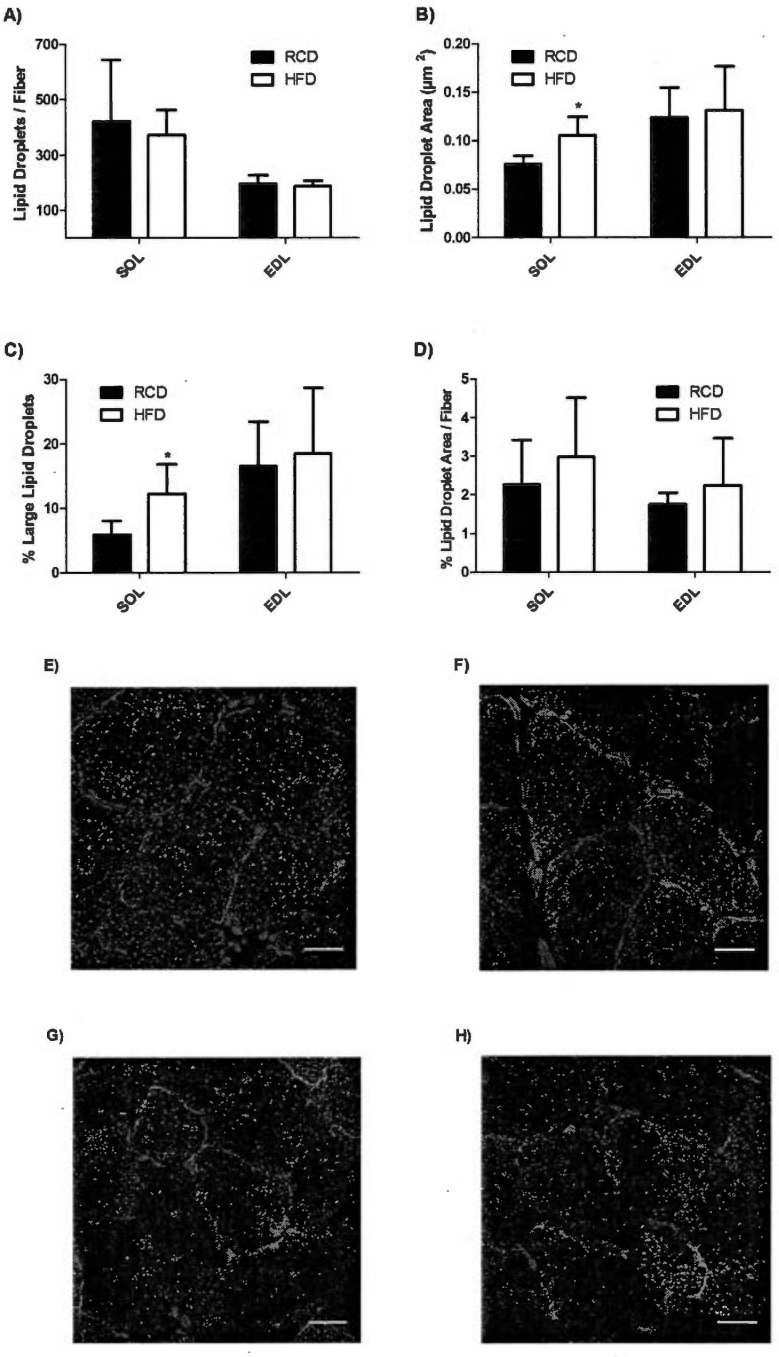

A)
Lipid Droplets / Fiber
700
500
300
100
RCD
HFD
SOL
EDL
B)
Lipid Droplet Area (µm 2)
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
RCD
HFD
*
SOL
EDL
C)
% Large Lipid Droplets
30
20
10
0
RCD
HFD
*
SOL
EDL
D)
% Lipid Droplet Area / Fiber
5
4
3
2
1
0
RCD
HFD
SOL
EDL
E)
F)
G)
H)

Figure 6.4

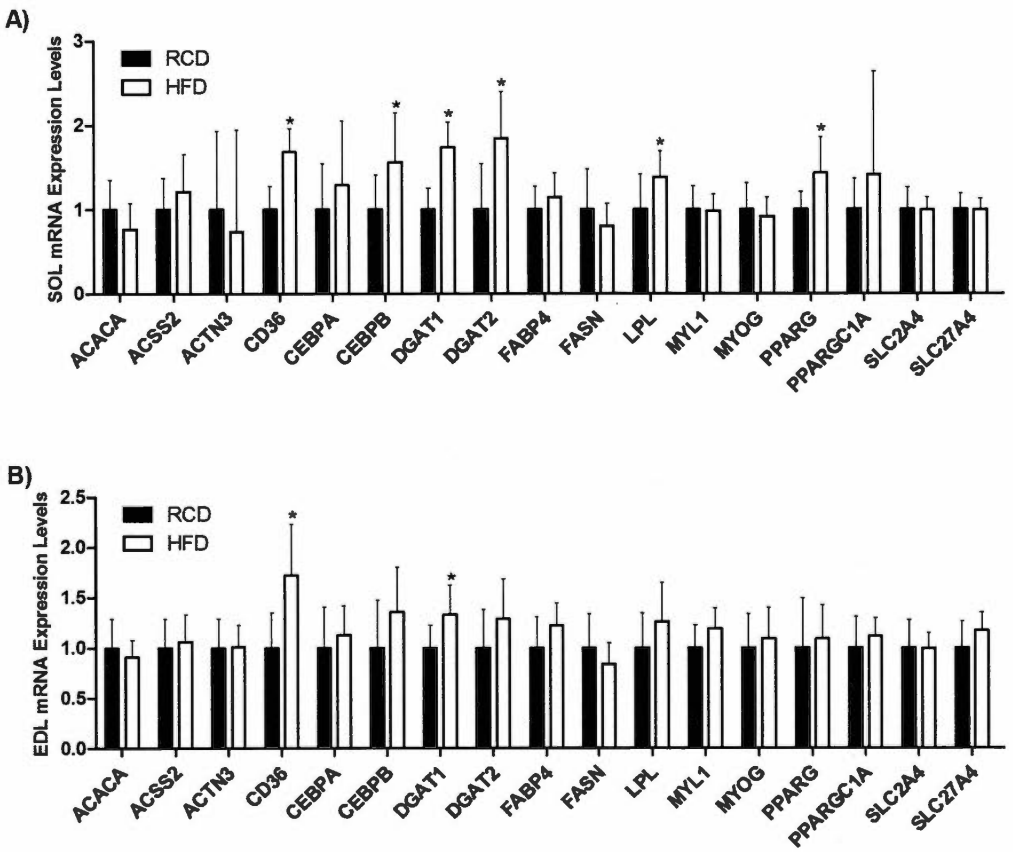

A)
SOL mRNA Expression Levels
RCD
HFD
ACACA
ACSS2
ACTN3
CD36
CEBPA
CEBPB
DGAT1
DGAT2
FABP4
FASN
LPL
MYL1
MYOG
PPARG
PPARGC1A
SLC2A4
SLC27A4
B)
EDL mRNA Expression Levels
RCD
HFD
ACACA
ACSS2
ACTN3
CD36
CEBPA
CEBPB
DGAT1
DGAT2
FABP4
FASN
LPL
MYL1
MYOG
PPARG
PPARGC1A
SLC2A4
SLC27A4

Figure 6.5

6.14 Figure legends

Figure 6.1 Skeletal muscle specific force of SOL (A) and EDL (B) muscles of young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Fatigue resistance (C), force recovery (D), time to maximum contraction (E), half relaxation time (F), and muscle mass (G) of the SOL and EDL muscles are shown. Unpaired Student's t-tests were used to compare values between both groups. Results are presented as means ± SD for n = 8; *indicates significant difference between the two groups ($P < 0.05$).

Figure 6.2 Cross-sectional areas of different fiber types in the SOL (A) and EDL (B) muscles of young rats submitted to HFD or RCD for 14 days. Fiber type proportions in the SOL (C) and EDL (D) muscles are shown. *In situ* immunolabeling of a SOL (E) and EDL (F) muscle cross-section for myosin heavy chains type I (blue), IIa (red), IIb (green), and IIx (black) are shown. Unpaired Student's t-tests were used to compare values between both groups. Results are presented as means ± SD for n = 6–7. Scale bar: 100 μm.

Figure 6.3 Western blot showing the expression of insulin signaling proteins in oxidative (SOL) and glycolytic (EDL) skeletal muscles of young rats submitted to 14 days of HFD or RCD (A). Blots were cropped for display. Quantification of IRS-1, Total Akt, phospho-Akt, Total S6, and phospho-S6 protein contents (normalized for their corresponding ponceau stain intensities) are shown in SOL (B) and EDL (C) muscles. Mann-Whitney U tests were used to compare values between both groups. Results are presented as means ± SEM for n = 4

Figure 6.4 Number of lipid droplets per fiber of SOL and EDL muscles of young rats submitted to HFD or RCD for 14 days (A). Average droplet cross-sectional area (B), percentage of large droplets (C) as well as percentage of fiber area covered by lipid droplets (D) in SOL and EDL muscles are shown. In situ fluorescent staining of lipid

droplets in SOL muscles of HFD (E) and RCD (F) rats as well as in EDL muscles of HFD (G) and RCD (H) rats. Unpaired Student's t-tests were used to compare values between both groups. Results are presented as means ± SD for n = 5–7; *indicates significant difference between the two groups ($P < 0.05$). Scale bar: 20 μm.

Figure 6.5 Expression levels of genes implicated in lipid and muscle metabolisms in the SOL (A) and EDL (B) muscles of young rats submitted to HFD or RCD for 14 days are shown. Results are presented as mean fold change ± SD of the HFD group compared to the RCD group using the ΔΔCT method for n = 15; *indicates significant difference between the two groups ($P < 0.05$).

CHAPITRE VII

A SHORT-TERM HIGH FAT DIET ALTERS GLUTATHIONE LEVELS IN OXIDATIVE SKELETAL MUSCLES OF YOUNG RATS

Auteurs : David E. Andrich, Lilya Melbouci, Ya Ou, Nickolas Auclair, Jocelyne Mercier, Jean-Christophe Grenier, Luis B. Barreiro, Jean-Claude Lavoie, Gilles Gouspillou, Gawiyou Danialou, Alain-Steve Comtois, David H. St-Pierre

Statut : Soumis pour publication au moment du dépôt final

Mise en contexte: Cet article avait comme objectif de mesurer les effets à court terme d'une diète riche en lipides sur le stress oxydant et l'inflammation dans le muscle oxydatif de jeunes rats. Pour ce faire, les quantités de glutathion réduit (GSH) et de disulfure de glutathion (forme oxydée; GSSG) ont été mesurées dans le muscle soléaire. De plus, afin de déterminer si la biogenèse du glutathion était altérée, l'expression de plusieurs gènes a été évaluée à l'aide du séquençage de l'ARN (RNA-Seq). L'expression génique de plusieurs protéines impliquées dans les processus d'inflammation et de stress oxydant a aussi été mesurée.

7.1 Abstract

BACKGROUND: Obesity and ensuing disorders are increasingly prevalent worldwide. High-fat diets (HFD) and diet-induced obesity have been shown to induce oxidative stress and inflammation while altering metabolic homeostasis in many organs, including the skeletal muscle. We previously observed that 14 days of HFD impairs contractile functions of the soleus (SOL) oxidative skeletal muscle. However, the mechanisms underlying these effects are not clarified. **OBJECTIVE**: To determine the effects of a short-term HFD on skeletal muscle glutathione metabolism in young rats. **METHODS**: Young male Wistar rats (100-125 g) were fed HFD or a regular chow diet (RCD) for 14 days. Reduced (GSH) and disulfide (GSSG) glutathione levels were measured in the SOL. The expression of genes involved in the regulation of glutathione metabolism, oxidative stress, antioxidant defence and inflammation were measured by RNA-Seq. **RESULTS**: We observed a significant 25% decrease of GSH levels in the SOL muscle. Levels of GSSG and the GSH:GSSG ratio were similar in both groups. Further, we observed a 4.5 fold increase in the expression of pro-inflammatory cytokine interleukin 6 (IL-6), but not of other cytokines or markers of inflammation and oxidative stress. **CONCLUSIONS**: A short-term HFD significantly lowers SOL muscle GSH levels. This effect could be mediated through the increased expression of IL-6. Further, the skeletal muscle antioxidant defence could be impaired under cellular stress. We surmise that these early alterations could contribute to HFD-induced insulin resistance observed in longer protocols.

Keywords: high fat diet, young rat model, glutathione, oxidative stress, inflammation, gene expression

7.2 Introduction

Obesity has become a major health, social and economic burden worldwide [1]. This is particularly concerning among children, since the prevalence of obesity and overweightness in this age group has risen by nearly 10% in the last 4 decades [2]. Indeed, the risk of carrying excess weight into adulthood and of developing morbid obesity is much greater among obese children and adolescents [3]. Overweight children are also more at risk of developing obesity related diseases like type 2 diabetes and the metabolic syndrome in later stages of life [4].

Sedentarity and poor diet quality are known as two main contributors to obesity, as calorie-rich diets promote a positive energy balance leading to weight gain. Obesity increases the risk of developing a large number of cardiometabolic disorders [5]. Strong evidence shows that sub-chronic inflammation and oxidative stress are two of the main contributors for the pathogenesis of metabolic dysfunctions in the obese state [6]. Long known to cause excess lipid accumulation [7], high-fat diets (HFD) have also been shown to stimulate the production of reactive oxygen species (ROS), thus leading to oxidative stress [8]. It appears as though HFD-stimulated excess ROS production can precede observable weight gain and insulin resistance [9], indicating that oxidative stress might be a result of the diet itself, and not a consequence of excess lipid accumulation. Further, HFD induces inflammation and oxidative stress in the skeletal muscle of rodents [10, 11]. Beyond its role in locomotion and posture maintenance, skeletal muscle is a key player in the regulation of metabolic homeostasis [12]. In fact, skeletal muscle insulin resistance is considered as the primary cause of type 2 diabetes [13]. Skeletal muscle dysfunctions can be induced by oxidative stress in type 2 diabetes patients [14, 15], highlighting its role in the pathogenesis of the disease [16]. Further, 6 weeks of HFD has been shown to decrease reduced glutathione (GSH) levels, an important antioxidant, in the gastrocnemius of 8-week old Sprague-Dawley rats [17]. After a similar exposure to

HFD, higher glutathione disulfide (GSSG) levels and a lower GSH:GSSG ratio were also observed in the gastrocnemius muscle of 18-week old rats [18]. However, the rate at which the onset of such alterations occurs remains to be elucidated. It was previously shown that glutathione levels are more prone to undergo HFD-induced alterations in oxidative muscle [19]. Therefore, this study aimed to investigate the effects of a short-term (14 days) HFD on glutathione metabolism in the soleus muscle of young rats. To do so, we measured glutathione levels as well as gene expression of known factors regulating glutathione metabolism, oxidative stress and inflammation. Thus, we hypothesized that a short-term exposure to an obesogenic diet alters glutathione production and redox potential while inducing oxidative stress and inflammation in the soleus muscle.

7.3 Materials and methods

7.3.1 Animal procedures

After a 3-day acclimatization period at UQAM's animal facility, young (100-125 g; approximately 4 weeks old) male Wistar rats (Charles River, St-Constant, QC, Canada) were randomly fed with a regular chow diet (RCD; n = 13-15) or HFD (n = 13-15) for 14 days and submitted to a 12-hour light/dark cycle starting at 06:00. Animals were given *ad libitum* access to the diets and water throughout the experimental protocol. Sacrifice was achieved after a 4h fast to standardize the feeding status of each animal. The soleus (SOL) muscle of both legs was collected for glutathione determination and RNA extraction. This study was carried out in strict accordance with recommendations of the National Institutes of Health guide for the care and use of laboratory animals. The protocol was approved by the *Comité Institutionnel de Protection des Animaux* (CIPA) of UQAM (Permit Number: 0515-

R3-759-0516). All efforts were made to minimize any potential discomfort to the animals.

7.3.2 Diets

Physiological fuel values were calculated from modified Atwater factors (3.5 kcal/g carbohydrate; 3.5 kcal/g protein; 8.5 kcal/g fat). The high fat diet was prepared from purified food-grade reagents according to a commercial formulation (D12492 diet, Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA). It had a macronutrient weight content of 26.3% carbohydrate (19.2% kcal), 26.2% protein (19% kcal) and 34.9% fat (61.8% kcal) and a physiological fuel value of 4.80 kcal/g. Carbohydrate sources were maltodextrin and sucrose (64.5% and 35.5%, respectively), protein sources were casein and L-cystine (98.5% and 1.5% respectively) while lipid sources were lard and soybean oil (90.7% and 9.3% respectively). The diet also contained cellulose (64.6 g/kg), calcium carbonate (7.1 g/kg), dicalcium phosphate (16.8 g/kg), potassium citrate (21.3 g/kg) and choline bitartrate (2.6 g/kg) as well as mineral (12.9 g/kg) and vitamin (12.9 g/kg) mixes. The regular chow diet (Charles River Rodent Diet # 5075, Cargill Animal Nutrition, MN, USA) had a macronutrient weight content of 55.2% carbohydrate (65.6% kcal), 18% protein (21.4% kcal) and 4.5% fat (13% kcal) and a physiological fuel value of 2.89 kcal/g.

7.3.3 Glutathione measurements

Immediately after collection, 0.25 g of SOL muscle was homogenized (2 × 10 s with Polytron Teador; Biospec Products Inc, Dremel-Racine, WI) in 1.25 ml of iced and freshly prepared 5% (w/v) metaphosphoric acid (Fisher A280-100) and centrifuged for 3 min at 7200 g. Pellets and supernatants were kept at –80 °C until protein and glutathione determinations, respectively. Reduced glutathione (GSH) and glutathione disulfide (GSSG) were quantified by capillary (75-μm × 50-cm silica) electrophoresis (75 mM boric acid and 25 mM Bis-Tris, pH 8.4, 28°C, 18 kV) as described

previously [20]. The redox potential was defined as the half-cell reduction potential of the GSSG ($2H^+$/2GSH couple) and calculated by using the Nernst equation (25 °C, pH 7.0) [21].

7.3.4 RNA extraction

Collected tissue samples were stored in RNAlater stabilization solution (Ambion) and stored at -20 °C for later use. Fifteen to 60 mg of tissue per sample was homogenized in 1 ml of TRIzol Reagent (Ambion) with a TissueLyserII homogenizer (Qiagen) and extracted according to the manufacturer's instructions. Samples were further processed using the PureLink RNA Mini Kit (Ambion) and contaminating DNA was removed via DNase on-column digestion. A BioDrop spectrophotometer was used to determine RNA concentrations and the ratio of absorbance at 260 nm and 280 nm used to assess purity. RNA integrity was evaluated by visualization of intact 18S and 28S RNA bands following agarose gel electrophoresis. SuperScript VILO Master Mix (Invitrogen) was used to synthesize cDNA with 1 μg of RNA per 20 μL reaction.

7.3.5 RNA sequencing

RNA sequencing methodology was adapted from Pai et al. [22]. Briefly, libraries were prepared using the Illumina TruSeq protocol. Once prepared, indexed cDNA libraries were pooled (6 libraries per pool) in equimolar amounts and the majority were sequenced with single-end 101bp reads on the Illumina HiSeq4000. Low quality score bases and adaptor sequences were first trimmed using Trim Galore (version 0.2.7). The resulting reads were then mapped to a genome reference sequence (Ensembl Rnor_6.0 release 81) with STAR (version 2.4.2) using the 1-pass protocol. The number of mismatches allowed for the pairs was of 5 and a soft-clipping step that optimizes alignment scores was automatically applied by the STAR software. Read counting on each gene was done with HTseq (version 0.6.1p1) which was launched separately on each alignment file with the intersection-nonempty option, supported

by SAMtools (version 0.1.19) using the same gene reference file as for the alignments.

7.3.6 Statistical analyses

All values are presented as means ± SD, except where noted. Normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Unpaired Student's *t* tests were used to compare values between the two groups. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 (IBM Corporation, Armonk, NY) software. For RNA-Seq analyses, the DESeq2 (version 1.18.1) software was used to identify genes with a significantly different expression in the HF group. A FDR-adjusted p-value < 0.10, corresponding to the treatment variable, and an absolute fold change of mean expression level greater than 1.5 was required to qualify a gene as significantly differently expressed [23]. Significance for all other statistical analyses was set at $P<0.05$

7.4 Results

As previously reported [24], we found no significant difference in body weight between both groups (data not shown). We observed significantly lower total glutathione levels in the soleus muscle of the HFD group (P=0.046; ***Fig. 1A***) which was largely due to the significant 25% decrease of GSH levels (P=0.042; ***Fig. 1B***). However, we did not find any difference in GSSG levels (P=0.722; ***Fig. 1C***), GSH:GSSG ratio (P=0.693; ***Fig. 2A***) or glutathione redox potential (P=0.534; ***Fig. 2B***).

When looking at gene expression levels, we did not find any significant differences in glutathione metabolism enzymes glutamate cysteine ligase catalytic subunit (GCLC; adjusted P=0.865), glutamate cysteine ligase modifier subunit (GCLM; adjusted

P=0.800), glutathione synthase (GSS; adjusted P=0.984), methionine synthase (MTR; adjusted P=0.917), glutathione reductase (GSR; adjusted P=0.978), γ-glutamyltransferase-7 (GGT7; adjusted P=0.248) or the Nrf2 transcription factor (NFE2L2; adjusted P=0.990; ***Fig. 3A***). Further, we did not find any differences in major antioxidant enzymes glutathione peroxidase (GPX; adjusted P=0.912), catalase (CAT; adjusted P=0.399) or mitochondrial superoxide dismutase (SOD2; adjusted P=0.600; ***Fig. 3B***).

We observed a significant 4.5 fold increase in the expression of interleukin 6 (IL6; adjusted P=0.05) in the HFD group, but not of its receptor (IL6R; adjusted P=0.913) or of any other interleukins or their respective receptor (adjusted P≥0.902; ***Fig. 4A***). Expression levels were also similar for the cytokine transforming growth factor β (TGFB; adjusted P≥0.579; ***Fig. 4B***) superfamily genes. Moreover, we did not observe any difference in the gene expression levels of NF-κB (NFKB; adjusted P≥0.801; ***Fig. 5A***) protein complex members or NADPH oxidase isoforms (NOX; adjusted P≥0.801; ***Fig. 5B***) between both groups.

7.5 Discussion

The present study intended to clarify the effects of a short-term HFD on the mechanisms regulating glutathione metabolism, the development of oxidative stress and inflammation in the soleus (SOL) muscle of young rats. To our knowledge, the present results are first to demonstrate reduced glutathione levels after such a short exposure to HFD. After measuring the expression levels of a host of enzymes involved in the regulation of glutathione metabolism, results indicate that this decrease in GSH is not due to an alteration in de novo synthesis or GSSG recycling via GSR. Further, a significant increase in the expression of the pro-inflammatory

cytokine interleukin 6 (IL-6) suggests that the SOL muscle has already initiated the first steps towards developing an inflamed state. These alterations precede any observable weight gain, but this mechanism is highly susceptible to contribute to the onset of impaired SOL contractile functions and insulin signaling [9], which could ultimately lead to the development of type 2 diabetes [25] as well as other metabolic disorders [26].

Multiple studies have previously reported HFD-induced altered GSH or GSSG levels or ratio in rodent skeletal muscle [11, 17, 19, 27-29]. However, the expression of both GCL subunits (the rate-limiting enzymes in the *de novo* synthesis of GSH), or of GSR (catalyzing the reduction of GSSG into GSH) was not altered, as previously reported in mice liver [30]. In the latter study, a diet supplemented with serine, a cysteine precursor, was shown to counteract the alterations in GSH production and the development of oxidative stress induced by a HFD in hepatic tissues. This is of great interest, since cysteine availability is the rate-limiting factor of cellular GSH synthesis [31]. As shown in previous work [24], our HFD formulation is supplemented with L-cystine, the oxidised dimer form of cysteine. Therefore, we conclude that reduced glutathione levels observed in this study were not a consequence of decreased cysteine availability caused by a lack of nutritional intake, as L-cystine supplementation was previously shown to stimulate GSH production [32]. In that same study, using the same diet and protocol, we observed significantly lighter livers in HFD rats [24]. Glutathione levels are at their highest in liver (where it is primarily synthesized), which also plays an important role in glutathione inter-organ homeostasis [33]. However, it appears hepatic GSH needs to reach extreme depletion before it can affect skeletal muscle GSH concentrations [34]. On the other hand, a more recent study hypothesized that skeletal muscle glutamine levels could influence hepatic GSH production in the presence of oxidative stress [35]. Thus, HFD-modulated interactions between liver and skeletal muscle glutathione metabolism need to be clarified.

As GSH reduces hydrogen peroxide (H_2O_2) through GPX, the levels of GSSG, a product of that reaction, rise. Under cellular stress, GSH levels drop as GSSG accumulates in the cell, although it can also react with the free sulfhydryl group of a protein to form a mixed disulfide or be transported out of the cell [31]. Hence, the GSH:GSSG ratio is a good indicator of cellular oxidative stress [36]. We did not observe any significant HFD-induced changes in GSSG levels or in the GSH:GSSG ratio. This, combined with the lack of difference in the expression of major antioxidant enzymes GPX, CAT and MnSOD or in various isoforms of NADPH oxidase, a superoxide precursor, would suggest that the soleus muscle is not under cellular stress, yet. This would confirm earlier findings from our group that showed no increase in ROS production from permeabilized soleus muscle fibers in rats submitted to the same 14-day HFD [37]. Nonetheless, in vivo measurements of H_2O_2 and malondialdehyde (MDA), a product of lipid peroxidation and widely used marker of oxidative stress [38], could provide further confirmation of these observations. The present results do not show any difference in the glutathione redox potential as calculated by the Nernst equation. However, this equation's validity as an indicator of cellular redox potential is currently debated in the literature, as it appears the redox potential is highly dependent of GSH, but not GSSG levels [39]. Moreover, further evidence points toward the redox potential depending predominantly on kinetics *per se*, rather than thermodynamic constraints [40]. Thus, it is appealing to postulate that, under exercise-induced physical stress and accelerated ROS production [41], the SOL antioxidant defence system will be compromised in HFD rats due to significantly lower GSH levels. Measurements of skeletal muscle glutathione levels following an exercise bout could confirm this hypothesis.

The secondary finding of this study is the 4.5 fold increase in the gene expression of pro-inflammatory cytokine IL-6, which has previously been shown to be increased in the obese state [42] and diminished after weight loss [43]. Co-incidence of elevated IL-6 and lower GSH levels were previously reported [44] while obesogenic diets

were shown to induce both of these effects in mice [45] and rats [46]. In individuals with type 2 diabetes, increased IL-6 levels have been suspected as a cause of lowered GSH levels [47]. In mice, IL-6 was associated with glutathione depletion in the skeletal muscle, a mechanism possibly involving increased cysteine catabolism [48]. Further, IL-6 has been shown to promote GSH release, but not production, from the liver into blood [49]. It remains to be seen if such a phenomenon could occur in the skeletal muscle. Furthermore, GSH has been shown to inhibit IL-6 production in patients with liver cirrhosis [50]. Induced GSH depletion has also been demonstrated to inhibit T helper cell T_h1 response in favour of T_h2 response, which is responsible for IL-6 production [51]. Thus, elevated IL-6 expression could also be consequential to low GSH levels. On the other hand, we did not observe a different expression of the IL-33 gene in the HFD group, which stimulates the production of T_h2-associated cytokines [52]. In both groups, we also found similar gene expression of other pro-inflammatory cytokines of the interleukin-1 superfamily, including IL-1β, whose expression has been shown to be stimulated by HFD in the vastus lateralis muscle of rats [53]. In light of those results, it seems appropriate to recommend that the underlying mechanisms of glutathione and interleukin interactions should be further investigated in future studies.

In order to better assess the inflammatory status of the SOL muscle, the expression of TGF-β cytokine superfamily isoforms was also considered, as it was reported to decrease GSH levels in multiple cell types, in vitro [54], possibly via the suppression of GCLC expression [55]. Further, HFD was shown to induce a rise in TGF-β levels in both rats and mice [56, 57]. We could not, however, observe similar results after submitting young rats to a 2-week HFD. Therefore, we cannot postulate that TGF-β influences glutathione metabolism at this early stage. Lastly, no alteration in the expression levels of NF-κB was noted in the present study. NF-κB is a major mediator of the inflammation cascade and its activation can be either stimulated or inhibited by GHS, depending on the tissue of interest and the experimental model

[58]. Increased NF-κB phosphorylation was also observed in the gastrocnemius muscle of rats after 16 weeks of HFD [59]. We could not, however, detect any difference in the expression of NF-κB between HFD and RCD rats after two weeks.

7.6 Conclusions

Results presented in this study demonstrate that a short-term high fat diet induces lower GSH levels in the SOL muscle of young rats. This effect can neither be attributed to a decrease in the expression of glutathione synthesis-implicated enzymes nor to observable oxidative stress. However, decreased GSH levels suggest a potentially altered antioxidant defence system. Moreover, 2 weeks of HFD induced a significant increase in IL-6 gene expression, which suggests its interaction with skeletal muscle glutathione metabolism. We surmise that those early alterations in response to a HFD participate to impairments in SOL contractile functions in young rats. Further studies are needed to better clarify the mechanisms (including the role of the liver and IL-6) underlying the reduction of GSH levels observed in the SOL muscle of young rats submitted to a short-term HFD. However, the present animal results indicate that glutathione metabolism could also be promptly altered in humans submitted to obesogenic diets and this could lead to impairments in contractile functions in skeletal muscles.

7.7 Acknowledgements

All authors have approved the final article

David H St-Pierre is funded by a NSERC Discovery Grant #418509-2012 and his salary support is provided by a FQRS *Chercheur Boursier Junior 1 Award.*

7.8 Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

7.9 References

1. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. Pharmacoeconomics. 2015 Jul; 33(7): 673-89.

2. Rao DP, Kropac E, Do MT, Roberts KC, Jayaraman GC. Childhood overweight and obesity trends in Canada. Health Promot Chronic Dis Prev Can. 2016 Sep; 36(9): 194-8.

3. The NS, Suchindran C, North KE, Popkin BM, Gordon-Larsen P. Association of adolescent obesity with risk of severe obesity in adulthood. JAMA. 2010 Nov 10; 304(18): 2042-7.

4. Biro FM, Wien M. Childhood obesity and adult morbidities. Am J Clin Nutr. 2010 May; 91(5): 1499S-505S.

5. Head GA. Cardiovascular and metabolic consequences of obesity. Front Physiol. 2015; 632.

6. Galassetti P. Inflammation and oxidative stress in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. Exp Diabetes Res. 2012; 2012943706.

7. Peckham SC, Entenman C, Carroll HW. The influence of a hypercalric diet on gross body and adipose tissue composition in the rat. J Nutr. 1962 Jun; 77187-97.

8. Auberval N, Dal S, Bietiger W, Pinget M, Jeandidier N, Maillard-Pedracini E, et al. Metabolic and oxidative stress markers in Wistar rats after 2 months on a high-fat diet. Diabetol Metab Syndr. 2014; 6130.

9. Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, Ando H, Nakamura S, Kurita S, Misu H, et al. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. Metabolism. 2008 Aug; 57(8): 1071-7.

10. Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Matsushima S, Inoue N, Ohta Y, et al. Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2009 Sep; 297(3): H1069-77.

11. Gortan Cappellari G, Zanetti M, Semolic A, Vinci P, Ruozi G, Falcione A, et al. Unacylated Ghrelin Reduces Skeletal Muscle Reactive Oxygen Species Generation and Inflammation and Prevents High-Fat Diet-Induced Hyperglycemia and Whole-Body Insulin Resistance in Rodents. Diabetes. 2016 Apr; 65(4): 874-86.

12. Frontera WR, Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. Calcif Tissue Int. 2015 Mar; 96(3): 183-95.

13. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2009 Nov; 32 Suppl 2S157-63.

14. Diaz-Morales N, Rovira-Llopis S, Escribano-Lopez I, Banuls C, Lopez-Domenech S, Falcon R, et al. Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Skeletal Muscle in Type 2 Diabetic Patients. Curr Pharm Des. 2016; 22(18): 2650-6.

15. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T. Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. J Clin Biochem Nutr. 2011 Jan; 48(1): 68-71.

16. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010 Oct 29; 107(9): 1058-70.

17. Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin CT, et al. Mitochondrial H2O2 emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. J Clin Invest. 2009 Mar; 119(3): 573-81.

18. Fisher-Wellman KH, Gilliam LA, Lin CT, Cathey BL, Lark DS, Neufer PD. Mitochondrial glutathione depletion reveals a novel role for the pyruvate dehydrogenase complex as a key H2O2-emitting source under conditions of nutrient overload. Free Radic Biol Med. 2013 Dec; 651201-8.

19. Pinho RA, Sepa-Kishi DM, Bikopoulos G, Wu MV, Uthayakumar A, Mohasses A, et al. High-fat diet induces skeletal muscle oxidative stress in a fiber type-dependent manner in rats. Free Radic Biol Med. 2017 Sep; 110381-9.

20. Lavoie JC, Rouleau T, Tsopmo A, Friel J, Chessex P. Influence of lung oxidant and antioxidant status on alveolarization: role of light-exposed total parenteral nutrition. Free Radic Biol Med. 2008 Sep 01; 45(5): 572-7.

21. Turcot V, Rouleau T, Tsopmo A, Germain N, Potvin L, Nuyt AM, et al. Long-term impact of an antioxidant-deficient neonatal diet on lipid and glucose metabolism. Free Radic Biol Med. 2009 Aug 01; 47(3): 275-82.

22. Pai AA, Baharian G, Page Sabourin A, Brinkworth JF, Nedelec Y, Foley JW, et al. Widespread Shortening of 3' Untranslated Regions and Increased Exon Inclusion Are Evolutionarily Conserved Features of Innate Immune Responses to Infection. PLoS Genet. 2016 Sep; 12(9): e1006338.

23. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biol. 2014; 15(12): 550.

24. Andrich DE, Melbouci L, Ou Y, Leduc-Gaudet JP, Chabot F, Lalonde F, et al. Altered Feeding Behaviors and Adiposity Precede Observable Weight Gain in Young Rats Submitted to a Short-Term High-Fat Diet. J Nutr Metab. 2018; 2018.

25. Wang Y, Wang PY, Qin LQ, Davaasambuu G, Kaneko T, Xu J, et al. The development of diabetes mellitus in Wistar rats kept on a high-fat/low-carbohydrate diet for long periods. Endocrine. 2003 Nov; 22(2): 85-92.

26. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. J Clin Invest. 2011 Jun; 121(6): 2111-7.

27. Yuzefovych LV, Musiyenko SI, Wilson GL, Rachek LI. Mitochondrial DNA damage and dysfunction, and oxidative stress are associated with endoplasmic reticulum stress, protein degradation and apoptosis in high fat diet-induced insulin resistance mice. PLoS One. 2013; 8(1): e54059.

28. Espinosa A, Campos C, Diaz-Vegas A, Galgani JE, Juretic N, Osorio-Fuentealba C, et al. Insulin-dependent H2O2 production is higher in muscle fibers of mice fed with a high-fat diet. Int J Mol Sci. 2013 Jul 29; 14(8): 15740-54.

29. Ritchie IR, Dyck DJ. Rapid loss of adiponectin-stimulated fatty acid oxidation in skeletal muscle of rats fed a high fat diet is not due to altered muscle redox state. PLoS One. 2012; 7(12): e52193.

30. Zhou X, He L, Zuo S, Zhang Y, Wan D, Long C, et al. Serine prevented high-fat diet-induced oxidative stress by activating AMPK and epigenetically modulating the

expression of glutathione synthesis-related genes. Biochim Biophys Acta. 2018 Feb; 1864(2): 488-98.

31. Lu SC. Glutathione synthesis. Biochim Biophys Acta. 2013 May; 1830(5): 3143-53.

32. Yin J, Ren W, Yang G, Duan J, Huang X, Fang R, et al. L-Cysteine metabolism and its nutritional implications. Mol Nutr Food Res. 2016 Jan; 60(1): 134-46.

33. Ookhtens M, Kaplowitz N. Role of the liver in interorgan homeostasis of glutathione and cyst(e)ine. Semin Liver Dis. 1998; 18(4): 313-29.

34. Burk RF, Hill KE. Reduced glutathione release into rat plasma by extrahepatic tissues. Am J Physiol. 1995 Sep; 269(3 Pt 1): G396-9.

35. Bilinsky LM, Reed MC, Nijhout HF. The role of skeletal muscle in liver glutathione metabolism during acetaminophen overdose. J Theor Biol. 2015 Jul 7; 376118-33.

36. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. Free Radic Biol Med. 2001 Jun 1; 30(11): 1191-212.

37. Leduc-Gaudet JP, Reynaud O, Chabot F, Mercier J, Andrich DE, St-Pierre DH, et al. The impact of a short-term high-fat diet on mitochondrial respiration, reactive oxygen species production, and dynamics in oxidative and glycolytic skeletal muscles of young rats. Physiol Rep. 2018 Feb; 6(4).

38. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. Clin Chem. 1997 Jul; 43(7): 1209-14.

39. Flohe L. The fairytale of the GSSG/GSH redox potential. Biochim Biophys Acta. 2013 May; 1830(5): 3139-42.

40. Deponte M. The Incomplete Glutathione Puzzle: Just Guessing at Numbers and Figures? Antioxid Redox Signal. 2017 Nov 20; 27(15): 1130-61.

41. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. Biomolecules. 2015 Apr 10; 5(2): 356-77.

42. Eder K, Baffy N, Falus A, Fulop AK. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. Inflamm Res. 2009 Nov; 58(11): 727-36.

43. Bougoulia M, Triantos A, Koliakos G. Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. Hormones (Athens). 2006 Jul-Sep; 5(3): 192-9.

44. Valles SL, Benlloch M, Rodriguez ML, Mena S, Pellicer JA, Asensi M, et al. Stress hormones promote growth of B16-F10 melanoma metastases: an interleukin 6- and glutathione-dependent mechanism. J Transl Med. 2013 Mar 22; 1172.

45. Han H, Qiu F, Zhao H, Tang H, Li X, Shi D. Dietary Flaxseed Oil Prevents Western-Type Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Apolipoprotein-E Knockout Mice. Oxid Med Cell Longev. 2017; 20173256241.

46. Govindaraj J, Sorimuthu Pillai S. Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress

in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. Mol Cell Biochem. 2015 Jun; 404(1-2): 143-59.

47. Lagman M, Ly J, Saing T, Kaur Singh M, Vera Tudela E, Morris D, et al. Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. PLoS One. 2015; 10(3): e0118436.

48. Hack V, Gross A, Kinscherf R, Bockstette M, Fiers W, Berke G, et al. Abnormal glutathione and sulfate levels after interleukin 6 treatment and in tumor-induced cachexia. FASEB J. 1996 Aug; 10(10): 1219-26.

49. Obrador E, Benlloch M, Pellicer JA, Asensi M, Estrela JM. Intertissue flow of glutathione (GSH) as a tumor growth-promoting mechanism: interleukin 6 induces GSH release from hepatocytes in metastatic B16 melanoma-bearing mice. J Biol Chem. 2011 May 6; 286(18): 15716-27.

50. Pena LR, Hill DB, McClain CJ. Treatment with glutathione precursor decreases cytokine activity. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 1999 Jan-Feb; 23(1): 1-6.

51. Peterson JD, Herzenberg LA, Vasquez K, Waltenbaugh C. Glutathione levels in antigen-presenting cells modulate Th1 versus Th2 response patterns. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Mar 17; 95(6): 3071-6.

52. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. Immunity. 2005 Nov; 23(5): 479-90.

53. Collins KH, Hart DA, Reimer RA, Seerattan RA, Waters-Banker C, Sibole SC, et al. High-fat high-sucrose diet leads to dynamic structural and inflammatory alterations in the rat vastus lateralis muscle. J Orthop Res. 2016 Dec; 34(12): 2069-78.

54. Liu RM, Gaston Pravia KA. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. Free Radic Biol Med. 2010 Jan 1; 48(1): 1-15.

55. Arsalane K, Dubois CM, Muanza T, Begin R, Boudreau F, Asselin C, et al. Transforming growth factor-beta1 is a potent inhibitor of glutathione synthesis in the lung epithelial cell line A549: transcriptional effect on the GSH rate-limiting enzyme gamma-glutamylcysteine synthetase. Am J Respir Cell Mol Biol. 1997 Nov; 17(5): 599-607.

56. Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, et al. Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF-beta/Smad3 signaling. Cell Metab. 2011 Jul 6; 14(1): 67-79.

57. Sousa-Pinto B, Goncalves L, Rodrigues AR, Tomada I, Almeida H, Neves D, et al. Characterization of TGF-beta expression and signaling profile in the adipose tissue of rats fed with high-fat and energy-restricted diets. J Nutr Biochem. 2016 Dec; 38107-15.

58. Hammond CL, Lee TK, Ballatori N. Novel roles for glutathione in gene expression, cell death, and membrane transport of organic solutes. J Hepatol. 2001 Jun; 34(6): 946-54.

59. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. Exp Physiol. 2011 Feb; 96(2): 179-93.

7.10 Figures

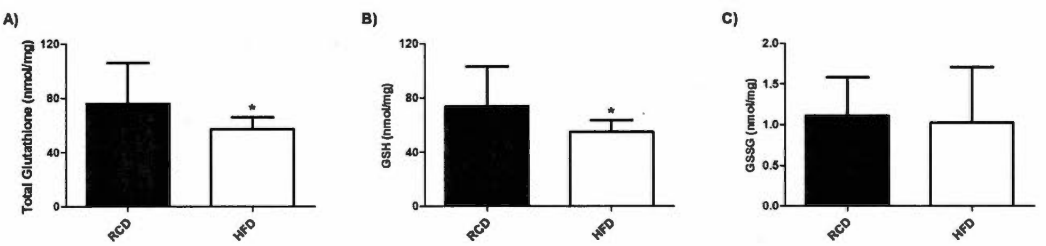


Figure 7.1

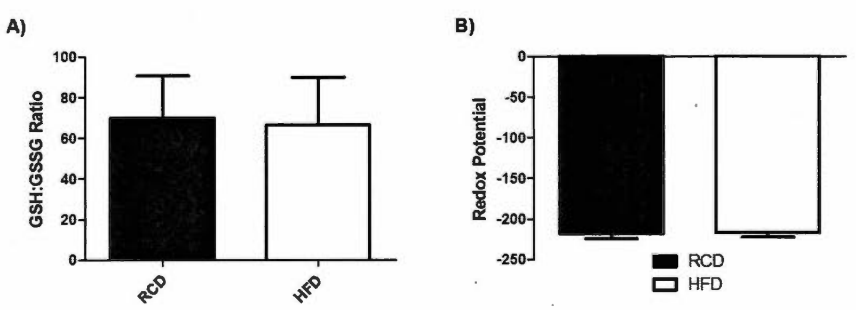


Figure 7.2

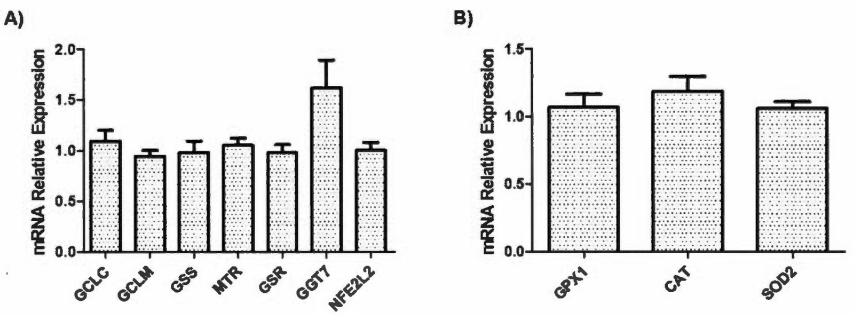


Figure 7.3

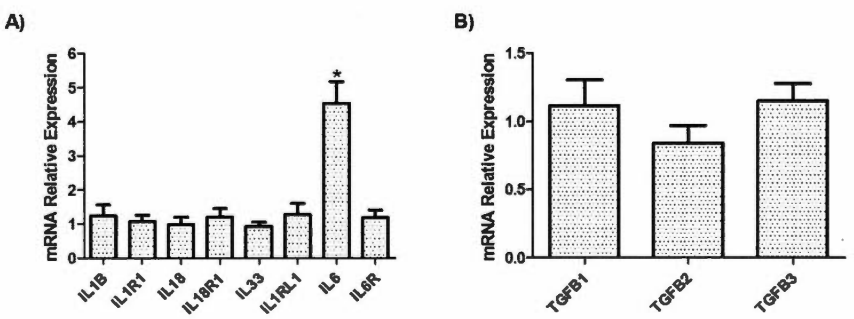


Figure 7.4

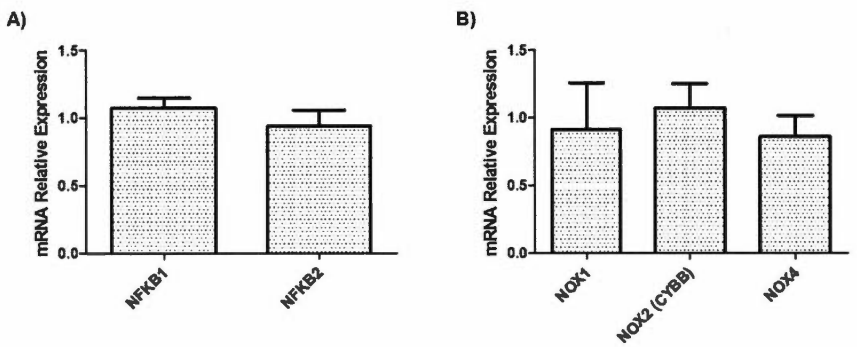

A)
mRNA Relative Expression
1.5
1.0
0.5
0.0
NFKB1
NFKB2
B)
mRNA Relative Expression
1.5
1.0
0.5
0.0
NOX1
NOX2 (CYBB)
NOX4

Figure 7.5

7.11 Figure Legends

Figure 7.1 Soleus muscle levels of total glutathione (A), GSH (B) and GSSG (C) in young rats submitted to 14 days of HFD or RCD. Results are presented as means ± SD for n = 13; * indicates significant difference between the two groups ($P<0.05$)

Figure 7.2 Soleus muscle GSH:GSSG ratio (A) and glutathione redox potential (B) in young rats submitted to 14 days of HFD or RCD. Results are presented as means ± SD for n = 13

Figure 7.3 Relative gene expression levels of various enzymes and transcription factors implicated in the glutathione metabolism (A) and relative gene expression levels of major antioxidant enzymes (B) in the soleus muscle of young rats submitted to 14 days of HFD. Results are presented as mean fold change, compared to the RCD group, ± SEM

Figure 7.4 Relative gene expression levels of various interleukins and their respective receptors (A) as well as relative gene expression levels of TGF-β cytokines (B) in the soleus muscle of young rats submitted to 14 days of HFD. Results are presented as mean fold change, compared to the RCD group, ± SEM; * indicates significant difference between the two groups (adjusted $P<0.10$)

Figure 7.5 Relative gene expression levels of NF-κB (A) and relative gene expression levels of various NADPH oxidase isoforms (B) in the soleus muscle of young rats submitted to 14 days of HFD. Results are presented as mean fold change, compared to the RCD group, ± SEM

CHAPITRE VIII

DISCUSSION

Les résultats présentés dans cette étude démontrent les effets à court terme d'une diète riche en lipides sur le métabolisme et les fonctions musculaires de jeunes rats. Il est possible d'observer, chez les rats étudiés, une hausse de plusieurs dépôts de gras viscéral, une modification de l'activité ambulatoire, un changement dans le temps de sommeil, une modification des habitudes alimentaires et de la taille des repas, une accumulation de lipides intramyocellulaires caractérisée par de plus grosses gouttelettes lipidiques, l'augmentation de l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides, une diminution du glutathion musculaire ainsi qu'une augmentation de l'expression de la cytokine pro-inflammatoires IL-6. Bien que d'autres études aient pu observer certains changements métaboliques chez des rats soumis à une diète pour une période équivalente, notre groupe est le premier à démontrer une diminution de la force musculaire induite par une diète après seulement deux semaines. De plus. nos résultats tendent à confirmer le fait qu'une diète contenant un haut pourcentage de gras, majoritairement composée de lard, induit des changements métaboliques rapides (Buettner *et al.*, 2007). Ils suggèrent aussi que ces changements sont plus rapides chez des rats en croissance, tel que démontré précédemment (Erdos *et al.*, 2011).

D'autres groupes avaient démontré que, chez le rat, un gain de poids significatif apparait après environ 4 à 8 semaines suivant le début d'une diète riche en lipides (Furnes *et al.*, 2009; So *et al.*, 2011). Bien que nous ayons observé une évolution du

poids similaire dans les deux groupes, il nous est aussi possible de voir une consommation calorique plus élevée dans le groupe de diète obésogène. Jumelée à une dépense énergétique similaire, ceci résulte en une balance énergétique supérieure qui ne se traduit pas par un gain de poids, mais bien par l'accumulation significative de gras viscéral, qui est associé à la résistance à l'insuline (Gabriely *et al.*, 2002). Ceci confirme le fait que de nombreux mécanismes liés à l'obésité sont actifs bien avant l'apparition d'un gain de poids significatif. De plus, les niveaux d'adiposité, surtout viscérale, peuvent être un meilleur indicateur de ces changements que le poids en soi, qui ne tient pas compte de la composition corporelle. D'autre part, il nous a aussi été possible d'observer des foies plus légers chez les rats soumis à la diète obésogène, ce qui va à l'encontre d'autres résultats qui ont observé des foies plus lourds à partir de 4 semaines suivant le début d'une diète obésogène (Milagro *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2010). Ceci suggère différents mécanismes adaptatifs à court terme, en réponse à une diète obésogène, qui demandent une recherche plus approfondie.

Par ailleurs, nos résultats tendent à confirmer qu'une augmentation de la taille, et non du nombre de repas, est la cause d'une plus grande consommation calorique chez les rats soumis à la diète riche en lipides. Ceci tend à confirmer les observations d'études préalables (Treesukosol et Moran, 2014). Il semblerait toutefois que, lorsque les animaux ont accès à de l'eau sucrée, cette tendance est inversée et que le nombre de repas est augmenté, ce qui mène aussi à l'obésité (la Fleur *et al.*, 2014). Cette étude présente une base intéressante pour de futures études tendant à utiliser une diète de type cafétéria ou « western » contenant d'importantes quantités de lipides, mais aussi de sucres. D'autre part, il nous a été possible d'observer une modification, chez les rats soumis à une diète riche en lipides, de la consommation de nourriture entre le jour et la nuit, tout comme une modification de l'activité ambulatoire et du sommeil. Ces résultats tendent à confirmer les altérations du rythme circadien observées préalablement (Pendergast *et al.*, 2013). Gomez et ses collègues avaient préalablement démontré que 10 semaines de diète riche en lipides induisaient une

diminution des taux à jeun de ghréline chez le rat (Gomez *et al.*, 2012), une altération qu'il est aussi possible d'observer chez des individus obèses. Nous n'avons toutefois pas pu observer les mêmes résultats après deux semaines. Bien que ces valeurs aient été mesurées à jeun, il semble possible que les repas plus caloriques, ingérés par les rats soumis à la diète obésogène, n'induisent par une diminution proportionnelle de la ghréline habituellement observée en réponse au contenu calorique du repas (Borer *et al.*, 2009). Des mesures pré- et postprandiales des taux de ghréline pourraient confirmer cette hypothèse. D'autre part, il nous a été possible d'observer que la durée des repas est plus courte chez les rats soumis à la diète obésogène. Il est possible que les signaux de satiété, en réponse à l'ingestion plus rapide d'une plus grande quantité de calories, ne puissent s'adapter adéquatement. La mesure postprandiale d'hormones contrôlant la satiété, telles la leptine, pourrait aider à expliquer, en partie, ce phénomène.

L'ensemble de nos résultats obtenus en analysant les muscles soléaire et EDL confirment que les altérations causées par une diète riche en lipides sont spécifiques au muscle étudié. Nous avons pu démontrer que la diète riche en lipides, après seulement 2 semaines, cause une diminution de la force spécifique dans le muscle soléaire, mais pas dans l'EDL. Eshima *et al.*, entre autres, avaient pu démontrer qu'une diète riche en lipides diminuait la force musculaire maximale chez la souris (Eshima *et al.*, 2017). Toutefois, nous sommes les premiers, à notre connaissance, à démontrer cet effet après seulement 2 semaines chez le rat. De plus, nous n'avons pas observé de différences dans le poids ou l'aire transversale estimée des muscles étudiés, ni dans la composition des fibres musculaires ou dans l'aire individuelle moyenne des fibres, ce qui démontre que d'autres mécanismes sont impliqués. Il est aussi possible de constater que les deux muscles conservent leur capacité de résistance à la fatigue ainsi que leur potentiel de récupération, ce qui tend à confirmer que le phénotype musculaire est demeuré intact. Nous avons observé que le temps nécessaire à l'atteinte du maximum de force générée (*time to maximum*) ainsi que le

temps de relaxation (*half relaxation time*) n'étaient pas altérés dans le muscle des rats soumis à la diète obésogène, ce qui suggère que la capacité de gestion du calcium par le réticulum sarcoplasmique est demeurée intacte (Ottenheijm *et al.*, 2008).

En comparant nos résultats de fibres musculaires avec ceux de Delp et collègues (Delp et Duan, 1996), il est possible de constater qu'ils sont, somme toute, semblables. Nous n'avons toutefois pas pu observer de fibres de type IIX dans le soléaire. L'âge des rats étudiés dans notre étude explique la plus petite aire des fibres observables dans nos résultats, qui sont proportionnels, selon les types de fibre, à ceux observables chez des rats adultes. Nos résultats se comparent donc à ceux observés par d'autres études sur de jeunes rats Wistar (Cabeco *et al.*, 2012). D'autres études avaient pu, auparavant, démontrer une modification du type de fibres musculaires induite par une diète riche en lipides, et ce après aussi peu que 6 semaines (Liao et Xu, 2011). Nous n'avons pas pu observer de changements induits par la diète après 2 semaines. L'expression, dans les muscles EDL et soléaire, de PGC-1α similaire entre les deux groupes tend à suggérer que les mécanismes de modification des fibres ne sont pas enclenchés après 2 semaines.

Quelques études ont préalablement démontré qu'une diète riche en lipides pouvait induire une résistance à l'insuline après seulement deux semaines chez le rat (Castorena *et al.*, 2014; Pataky *et al.*, 2017). Toutefois, notre évaluation de différentes protéines impliquées dans la signalisation de l'insuline ne nous a pas permis d'observer les mêmes résultats. Il est possible que l'âge des rats (6-7 semaines) ou le muscle étudié (épitrochléen) dans ces deux études préalables influence la vitesse du développement de la résistance à l'insuline. De plus, nous n'avons pas effectué de test de tolérance au glucose, ce qui aurait pu démontrer une résistance à l'insuline précoce sans toutefois modifier le niveau des protéines impliquées dans la signalisation du récepteur. Bien que nous n'ayons pas mesuré son potentiel de translocation, nous n'avons pas non plus observé une différence dans l'expression de GLUT4, ce qui

confirme que la sensibilité à l'insuline n'est pas altérée après deux semaines dans les muscles EDL et soléaires.

Par ailleurs, il nous a été possible d'observer, dans le muscle soléaire, une hypertrophie des gouttelettes lipidiques intramyocellulaires. Bonen et ses collègues avaient auparavant démontré que l'accumulation de lipides était plus rapide dans le muscle oxydatif en réponse à une diète riche en lipides (Bonen *et al.*, 2015). À la lumière de nos résultats, il est possible d'émettre l'hypothèse que cette accumulation de lipides pourrait être, du moins en partie, responsable de la diminution de force spécifique dans le muscle soléaire. Il a préalablement été démontré que les grosses gouttelettes lipidiques occupaient un rôle de stockage, alors que les plus petites gouttelettes étaient plus facilement utilisées pour la lipolyse (Mak, 2012; Murphy, D. J., 2012). Le lien entre l'accumulation de lipides intramyocellulaires et une modification de la force musculaire avait déjà été établi chez la souris, indépendamment du type de fibre (Nunes *et al.*, 2012). Cette étude émit l'hypothèse que des gouttelettes lipidiques hypertrophiées pourraient altérer mécaniquement la contraction des filaments musculaires. De plus, une étude utilisant un cadre de modélisation mathématique simulant l'accumulation intramusculaire de lipides a suggéré que les altérations mécaniques du muscle seraient responsables de la diminution de la force (Rahemi *et al.*, 2015). Les lipides intramusculaires pourraient donc augmenter la rigidité des structures responsables du raccourcissement et de l'expansion latérale des fibres. Tel que mentionné précédemment, les plus grosses gouttelettes lipidiques sont plus susceptibles d'induire des changements structuraux menant à ces altérations mécaniques.

Par ailleurs, il nous est aussi possible d'observer une expression plus importante de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme des lipides dans le soléaire, ce qui tend à expliquer la taille des gouttelettes lipidiques observées. Le facteur de transcription C/EBPβ est impliqué dans la différentiation de pré-adipocytes en

adipocytes matures (Tanaka *et al.*, 1997). La protéine CD36 importe des acides gras dans la cellule alors que les enzymes DGAT catalysent la formation de triglycérides à partir de diglycérides et favorisent le stockage lipidique (Roorda *et al.*, 2005). De plus, d'autres expériences de notre groupe utilisant le séquençage de l'ARN nous a permis d'observer une expression 3 fois plus élevée de la périlipine-5 dans le muscle soléaire de rats soumis à 2 semaines de diète riche en lipides. Cette protéine recouvre les gouttelettes lipidiques et sa surexpression promeut la formation de plus grosses gouttelettes lipidiques (Bosma *et al.*, 2013). De plus, elle peut induire une diminution de la lipolyse ainsi que de la β-oxydation (Wang, H. *et al.*, 2011). Sa surexpression dans le muscle soléaire pourrait expliquer, en partie, la formation de plus grosses gouttelettes lipidiques menant potentiellement à une diminution de la force musculaire.

Quelques études avaient préalablement démontré que la production de glutathion musculaire pouvait être altérée en réponse à une diète riche en lipides chez le rat (Anderson *et al.*, 2009). Nous avons toutefois pu observer ces résultats après seulement deux semaines. À l'aide de séquençage de l'ARN, il nous a été possible de mesurer l'expression de plusieurs gènes d'enzymes impliquées dans la genèse *de novo* du GSH ou dans sa formation à partir du recyclage de GSSG. Nous n'avons pas pu observer de différence dans l'expression de ces gènes, ce qui suggère que les taux réduits de GSH ne sont pas dus à une altération de sa synthèse. Puisque la diète riche en lipides est supplémentée de L-cystine, la disponibilité de la cystéine devrait être suffisante pour la synthèse du glutathion.

Il est aussi possible que la production hépatique de glutathion, qui est importante pour son exportation dans plusieurs organes, soit altérée, comme nous avons pu observer préalablement un poids des foies réduit chez les rats soumis à la diète obésogène.

Cette hypothèse pourrait être vérifiée par la mesure du glutathion hépatique. D'autre part, en observant le ratio GSH:GSSG, il semble que le muscle ne soit pas en situation de stress. Toutefois, étant donné une disponibilité réduite de GSH, il est pertinent d'émettre l'hypothèse qu'une situation augmentant la production de ROS, tel l'exercice physique, pourrait induire un stress oxydant (Steinbacher et Eckl, 2015). Cette augmentation des ROS à l'exercice pourrait accélérer la fatigue musculaire (Cheng, A. J. *et al.*, 2015) et ainsi contribuer à une diminution de la force.

Bien que nous n'ayons pas pu observer une expression différente de plusieurs autres gènes liés au stress oxydant, nous avons pu constater une expression de l'interleukine-6 4,5 fois plus importante dans le muscle soléaire des rats soumis à la diète riche en lipides. L'augmentation d'IL-6 avait déjà été observée en réponse à une diète obésogène, conjointement à une diminution de GSH (Govindaraj et Sorimuthu Pillai, 2015). Il a déjà été démontré que l'IL-6 pouvait induire une diminution de GSH (Hack *et al.*, 1996). Par contre, il est aussi possible que les faibles taux de GSH induisent une augmentation de l'IL-6 (Pena *et al.*, 1999). L'interaction entre cette cytokine et le glutathion se doit donc d'être mieux caractérisée à l'aide de plus amples recherches.

CONCLUSION

Nos recherches démontrent la rapidité avec laquelle une diète riche en lipides peut induire plusieurs changements métaboliques et musculaires chez le rat. Ces changements, à plus long terme, peuvent être impliqués dans le développement de l'obésité et de maladies cardiométaboliques. Nos résultats suggèrent des mécanismes pouvant potentiellement induire une diminution de la force musculaire, telle l'accumulation de plus grosses gouttelettes lipidiques intramyocellulaires ainsi que le développement de processus inflammatoires pouvant mener à un stress oxydant dans le muscle squelettique. Les changements induits à court terme par une diète riche en lipides peuvent déclencher une cascade d'évènements, dont certains peuvent être plus difficilement réversibles. Ceci souligne le fait qu'une ingestion accrue de lipides induit beaucoup plus qu'une accumulation pondérale de masse adipeuse, et que l'apparition de ces altérations est rapide chez le rat en croissance. Nos résultats permettent de mieux caractériser et expliquer certains de ces changements rapides, mais ouvrent aussi la voie à plusieurs autres investigations qui pourraient permettre d'élucider certains mécanismes sous-jacents.

ANNEXE A

AUTRES TRAVAUX

Andrich, D. E., Cianflone, K., Comtois, A. S., Lalonde, S. et St-Pierre, D. H. (2012). The endocrine effects of acylated and des-acylated ghrelin. *Res Rep Endocr Disord*, *2012*(2), 31-40.

En ligne : https://www.dovepress.com/getfile.php?fileID=13777

Leduc-Gaudet, J. P., Reynaud, O., Chabot, F., Mercier, J., **Andrich, D. E.**, St-Pierre, D. H. et Gouspillou, G. (2018). The impact of a short-term high-fat diet on mitochondrial respiration, reactive oxygen species production, and dynamics in oxidative and glycolytic skeletal muscles of young rats. *Physiol Rep*, *6*(4).

En ligne : https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.14814/phy2.13548

Dionne, A., Leone, M., **Andrich, D. E.**, Perusse, L. et Comtois, A. S. (2017). Acute breathing patterns in healthy and heart disease participants during cycling at different levels of immersion. *Respir Physiol Neurobiol*, *235*, 1-7.

Dionne, A., Leone, M., Goulet, S., **Andrich, D. E.**, Perusse, L. et Comtois, A. S. (2018). Acute effects of water immersion on heart rate variability in participants with heart disease. *Clin Physiol Funct Imaging*, *38*(2), 233-239.

RÉFÉRENCES

Abdullah, A., Peeters, A., de Courten, M. et Stoelwinder, J. (2010). The magnitude of association between overweight and obesity and the risk of diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Diabetes Res Clin Pract, 89*(3), 309-319.

Adams, S. H., Lei, C., Jodka, C. M., Nikoulina, S. E., Hoyt, J. A., Gedulin, B., Mack, C. M. et Kendall, E. S. (2006). PYY[3-36] administration decreases the respiratory quotient and reduces adiposity in diet-induced obese mice. *J Nutr, 136*(1), 195-201.

Adeghate, E., Christopher Howarth, F., Rashed, H., Saeed, T. et Gbewonyo, A. (2006). The effect of a fat-enriched diet on the pattern of distribution of pancreatic islet cells in the C57BL/6J mice. *Ann N Y Acad Sci, 1084*, 361-370.

Aguirre, V., Uchida, T., Yenush, L., Davis, R. et White, M. F. (2000). The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem, 275*(12), 9047-9054.

Aguirre, V., Werner, E. D., Giraud, J., Lee, Y. H., Shoelson, S. E. et 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*(2), 1531-1537.

Ahmed, U., Redgrave, T. G. et Oates, P. S. (2009). Effect of dietary fat to produce non-alcoholic fatty liver in the rat. *J Gastroenterol Hepatol, 24*(8), 1463-1471.

Ahren, B., Gudbjartsson, T., Al-Amin, A. N., Martensson, H., Myrsen-Axcrona, U., Karlsson, S., Mulder, H. et Sundler, F. (1999). Islet perturbations in rats fed a high-fat diet. *Pancreas, 18*(1), 75-83.

Air, E. L., Benoit, S. C., Blake Smith, K. A., Clegg, D. J. et Woods, S. C. (2002). Acute third ventricular administration of insulin decreases food intake in two paradigms. *Pharmacol Biochem Behav, 72*(1-2), 423-429.

Akl, M. G., Fawzy, E., Deif, M., Farouk, A. et Elshorbagy, A. K. (2017). Perturbed adipose tissue hydrogen peroxide metabolism in centrally obese men: Association with insulin resistance. *PLoS One*, *12*(5), e0177268.

Al-Qusairi, L. et Laporte, J. (2011). T-tubule biogenesis and triad formation in skeletal muscle and implication in human diseases. *Skelet Muscle*, *1*(1), 26.

Albuali, W. H. (2014). Evaluation of oxidant-antioxidant status in overweight and morbidly obese Saudi children. *World J Clin Pediatr*, *3*(1), 6-13.

Alvarez, V., Carrasco, F., Cuevas, A., Valenzuela, B., Munoz, G., Ghiardo, D., Burr, M., Lehmann, Y., Leiva, M. J., Berry, M. et Maluenda, F. (2016). Mechanisms of long-term weight regain in patients undergoing sleeve gastrectomy. *Nutrition*, *32*(3), 303-308.

Alvheim, A. R., Malde, M. K., Osei-Hyiaman, D., Lin, Y. H., Pawlosky, R. J., Madsen, L., Kristiansen, K., Froyland, L. et Hibbeln, J. R. (2012). Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-AG and anandamide and induces obesity. *Obesity (Silver Spring)*, *20*(10), 1984-1994.

Amann, M., Pegelow, D. F., Jacques, A. J. et Dempsey, J. A. (2007). Inspiratory muscle work in acute hypoxia influences locomotor muscle fatigue and exercise performance of healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *293*(5), R2036-2045.

Anderson, E. J., Lustig, M. E., Boyle, K. E., Woodlief, T. L., Kane, D. A., Lin, C. T., Price, J. W., 3rd, Kang, L., Rabinovitch, P. S., Szeto, H. H., Houmard, J. A., Cortright, R. N., Wasserman, D. H. et Neufer, P. D. (2009). Mitochondrial H2O2 emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest*, *119*(3), 573-581.

Andreyeva, T., Long, M. W., Henderson, K. E. et Grode, G. M. (2010). Trying to lose weight: diet strategies among Americans with overweight or obesity in 1996 and 2003. *J Am Diet Assoc*, *110*(4), 535-542.

Anton, S. D., Newton, R. L., Jr., Sothern, M., Martin, C. K., Stewart, T. M. et Williamson, D. A. (2006). Association of depression with Body Mass Index, sedentary behavior, and maladaptive eating attitudes and behaviors in 11 to 13-year old children. *Eat Weight Disord*, *11*(3), e102-108.

Aponte, Y., Atasoy, D. et Sternson, S. M. (2011). AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat Neurosci*, *14*(3), 351-355.

Arner, P. (2005). Resistin: yet another adipokine tells us that men are not mice. *Diabetologia*, *48*(11), 2203-2205.

Arruda, A. P., Milanski, M., Coope, A., Torsoni, A. S., Ropelle, E., Carvalho, D. P., Carvalheira, J. B. et Velloso, L. A. (2011). Low-grade hypothalamic inflammation leads to defective thermogenesis, insulin resistance, and impaired insulin secretion. *Endocrinology*, *152*(4), 1314-1326.

Asakawa, A., Inui, A., Yuzuriha, H., Ueno, N., Katsuura, G., Fujimiya, M., Fujino, M. A., Niijima, A., Meguid, M. M. et Kasuga, M. (2003). Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*, *124*(5), 1325-1336.

Auberval, N., Dal, S., Bietiger, W., Pinget, M., Jeandidier, N., Maillard-Pedracini, E., Schini-Kerth, V. et Sigrist, S. (2014). Metabolic and oxidative stress markers in Wistar rats after 2 months on a high-fat diet. *Diabetol Metab Syndr*, *6*, 130.

Ayer, A., Tan, S. X., Grant, C. M., Meyer, A. J., Dawes, I. W. et Perrone, G. G. (2010). The critical role of glutathione in maintenance of the mitochondrial genome. *Free Radic Biol Med*, *49*(12), 1956-1968.

Baek, K. W., Cha, H. J., Ock, M. S., Kim, H. S., Gim, J. A. et Park, J. J. (2018). Effects of regular-moderate exercise on high-fat diet-induced intramyocellular lipid accumulation in the soleus muscle of Sprague-Dawley rats. *J Exerc Rehabil*, *14*(1), 32-38.

Baez-Duarte, B. G., Zamora-Ginez, I., Mendoza-Carrera, F., Ruiz-Vivanco, G., Torres-Rasgado, E., Gonzalez-Mejia, M. E., Garcia-Zapien, A., Flores-Martinez, S. E. et Perez-Fuentes, R. (2012). Serum levels of glutathione peroxidase 3 in overweight and obese subjects from central Mexico. *Arch Med Res*, *43*(7), 541-547.

Banni, S. et Di Marzo, V. (2010). Effect of dietary fat on endocannabinoids and related mediators: consequences on energy homeostasis, inflammation and mood. *Mol Nutr Food Res*, *54*(1), 82-92.

Barnea, M., Shamay, A., Stark, A. H. et Madar, Z. (2006). A high-fat diet has a tissue-specific effect on adiponectin and related enzyme expression. *Obesity (Silver Spring)*, *14*(12), 2145-2153.

Barnes, A. S. (2011). The epidemic of obesity and diabetes: trends and treatments. *Tex Heart Inst J*, *38*(2), 142-144.

Barzilai, A. et Yamamoto, K. (2004). DNA damage responses to oxidative stress. *DNA Repair (Amst)*, *3*(8-9), 1109-1115.

Batterham, R. L., Cowley, M. A., Small, C. J., Herzog, H., Cohen, M. A., Dakin, C. L., Wren, A. M., Brynes, A. E., Low, M. J., Ghatei, M. A., Cone, R. D. et Bloom, S. R. (2002). Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*, *418*(6898), 650-654.

Batterham, R. L., Heffron, H., Kapoor, S., Chivers, J. E., Chandarana, K., Herzog, H., Le Roux, C. W., Thomas, E. L., Bell, J. D. et Withers, D. J. (2006). Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab*, *4*(3), 223-233.

Batterham, R. L., Le Roux, C. W., Cohen, M. A., Park, A. J., Ellis, S. M., Patterson, M., Frost, G. S., Ghatei, M. A. et Bloom, S. R. (2003). Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, *88*(8), 3989-3992.

Beck, B. (2006). Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *361*(1471), 1159-1185.

Benac, N. (2014). Will Health Canada follow US move to eliminate trans fats? *CMAJ*, *186*(1), E9-10.

Benatti, F., Solis, M., Artioli, G., Montag, E., Painelli, V., Saito, F., Baptista, L., Costa, L. A., Neves, R., Seelaender, M., Ferriolli, E., Pfrimer, K., Lima, F., Roschel, H., Gualano, B. et Lancha, A., Jr. (2012). Liposuction induces a compensatory increase of visceral fat which is effectively counteracted by physical activity: a randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab*, *97*(7), 2388-2395.

Bensimhon, D. R., Kraus, W. E. et Donahue, M. P. (2006). Obesity and physical activity: a review. *Am Heart J*, *151*(3), 598-603.

Benstaali, C., Mailloux, A., Bogdan, A., Auzeby, A. et Touitou, Y. (2001). Circadian rhythms of body temperature and motor activity in rodents their relationships with the light-dark cycle. *Life Sci*, *68*(24), 2645-2656.

Bertrand, C., Valet, P. et Castan-Laurell, I. (2015). Apelin and energy metabolism. *Front Physiol*, *6*, 115.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. et Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*, *5*(1), 9-19.

Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid Med Cell Longev*, *2016*, 5698931.

Bjursell, M., Gerdin, A. K., Lelliott, C. J., Egecioglu, E., Elmgren, A., Tornell, J., Oscarsson, J. et Bohlooly, Y. M. (2008). Acutely reduced locomotor activity is a major contributor to Western diet-induced obesity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *294*(2), E251-260.

Bloemberg, D. et Quadrilatero, J. (2012). Rapid determination of myosin heavy chain expression in rat, mouse, and human skeletal muscle using multicolor immunofluorescence analysis. *PLoS One*, *7*(4), e35273.

Bloomer, R. J., Kabir, M. M., Marshall, K. E., Canale, R. E. et Farney, T. M. (2010). Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size. *Lipids Health Dis*, *9*, 79.

Blouin, C. M., Prado, C., Takane, K. K., Lasnier, F., Garcia-Ocana, A., Ferre, P., Dugail, I. et Hajduch, E. (2010). Plasma membrane subdomain compartmentalization contributes to distinct mechanisms of ceramide action on insulin signaling. *Diabetes*, *59*(3), 600-610.

Bodur, A., Kahraman, C., Us Altay, D., Rendi, T. A., Mentese, A. et Alver, A. (2018). Investigation of the relationship between oxidative stress and SCUBE1 levels in high fat diet-induced obese rats. *Turk J Med Sci*, *48*(1), 196-201.

Boi, S. K., Buchta, C. M., Pearson, N. A., Francis, M. B., Meyerholz, D. K., Grobe, J. L. et Norian, L. A. (2016). Obesity alters immune and metabolic profiles: New insight from obese-resistant mice on high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*, *24*(10), 2140-2149.

Bonen, A., Jain, S. S., Snook, L. A., Han, X. X., Yoshida, Y., Buddo, K. H., Lally, J. S., Pask, E. D., Paglialunga, S., Beaudoin, M. S., Glatz, J. F., Luiken, J. J., Harasim, E., Wright, D. C., Chabowski, A. et Holloway, G. P. (2015). Extremely rapid increase in fatty acid transport and intramyocellular lipid accumulation but markedly delayed insulin resistance after high fat feeding in rats. *Diabetologia*, *58*(10), 2381-2391.

Borer, K. T., Wuorinen, E., Ku, K. et Burant, C. (2009). Appetite responds to changes in meal content, whereas ghrelin, leptin, and insulin track changes in energy availability. *J Clin Endocrinol Metab*, *94*(7), 2290-2298.

Bosma, M., Sparks, L. M., Hooiveld, G. J., Jorgensen, J. A., Houten, S. M., Schrauwen, P., Kersten, S. et Hesselink, M. K. (2013). Overexpression of PLIN5 in skeletal muscle promotes oxidative gene expression and intramyocellular lipid content without compromising insulin sensitivity. *Biochim Biophys Acta*, *1831*(4), 844-852.

Bougoulia, M., Triantos, A. et Koliakos, G. (2006). Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. *Hormones (Athens)*, *5*(3), 192-199.

Bowen, K. J., Kris-Etherton, P. M., Shearer, G. C., West, S. G., Reddivari, L. et Jones, P. J. H. (2017). Oleic acid-derived oleoylethanolamide: A nutritional science perspective. *Prog Lipid Res*, *67*, 1-15.

Boyle, C. N., Rossier, M. M. et Lutz, T. A. (2011). Influence of high-fat feeding, diet-induced obesity, and hyperamylinemia on the sensitivity to acute amylin. *Physiol Behav*, *104*(1), 20-28.

Branecky, K. L., Niswender, K. D. et Pendergast, J. S. (2015). Disruption of Daily Rhythms by High-Fat Diet Is Reversible. *PLoS One*, *10*(9), e0137970.

Bravi, M. C., Armiento, A., Laurenti, O., Cassone-Faldetta, M., De Luca, O., Moretti, A. et De Mattia, G. (2006). Insulin decreases intracellular oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, *55*(5), 691-695.

Bravo Santos, R., Delgado, J., Cubero, J., Franco, L., Ruiz-Moyano, S., Mesa, M., Rodriguez, A. B., Uguz, C. et Barriga, C. (2016). Activity/inactivity circadian rhythm shows high similarities between young obesity-induced rats and old rats. *Physiol Int*, *103*(1), 65-74.

Briaud, I., Kelpe, C. L., Johnson, L. M., Tran, P. O. et Poitout, V. (2002). Differential effects of hyperlipidemia on insulin secretion in islets of langerhans from hyperglycemic versus normoglycemic rats. *Diabetes*, *51*(3), 662-668.

Briggs, D. I., Enriori, P. J., Lemus, M. B., Cowley, M. A. et Andrews, Z. B. (2010). Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology*, *151*(10), 4745-4755.

Brons, C., Jacobsen, S., Hiscock, N., White, A., Nilsson, E., Dunger, D., Astrup, A., Quistorff, B. et Vaag, A. (2012). Effects of high-fat overfeeding on mitochondrial function, glucose and fat metabolism, and adipokine levels in low-birth-weight subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *302*(1), E43-51.

Brons, C., Jensen, C. B., Storgaard, H., Hiscock, N. J., White, A., Appel, J. S., Jacobsen, S., Nilsson, E., Larsen, C. M., Astrup, A., Quistorff, B. et Vaag, A. (2009). Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men. *J Physiol*, *587*(Pt 10), 2387-2397.

Brookes, S. J., Spencer, N. J., Costa, M. et Zagorodnyuk, V. P. (2013). Extrinsic primary afferent signalling in the gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, *10*(5), 286-296.

Brouns, F. (2018). Overweight and diabetes prevention: is a low-carbohydrate-high-fat diet recommendable? *Eur J Nutr*, *57*(4), 1301-1312.

Budd, G. M. et Hayman, L. L. (2008). Addressing the childhood obesity crisis: a call to action. *MCN Am J Matern Child Nurs*, *33*(2), 111-118, quiz 119-120.

Budohoski, L., Panczenko-Kresowska, B., Langfort, J., Zernicka, E., Dubaniewicz, A., Ziemlanski, S., Challiss, R. A. et Newsholme, E. A. (1993). Effects of saturated and polyunsaturated fat enriched diet on the skeletal muscle insulin sensitivity in young rats. *J Physiol Pharmacol*, *44*(4), 391-398.

Buettner, R., Scholmerich, J. et Bollheimer, L. C. (2007). High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*, *15*(4), 798-808.

Butler, P. C., Chou, J., Carter, W. B., Wang, Y. N., Bu, B. H., Chang, D., Chang, J. K. et Rizza, R. A. (1990). Effects of meal ingestion on plasma amylin concentration in NIDDM and nondiabetic humans. *Diabetes*, *39*(6), 752-756.

Cabeco, L. C., Budri, P. E., Baroni, M., Castan, E. P., Carani, F. R., de Souza, P. A., Boer, P. A., Matheus, S. M. et Dal-Pai-Silva, M. (2012). Maternal protein restriction induce skeletal muscle changes without altering the MRFs MyoD and myogenin expression in offspring. *J Mol Histol*, *43*(5), 461-471.

Cadot, B., Gache, V. et Gomes, E. R. (2015). Moving and positioning the nucleus in skeletal muscle - one step at a time. *Nucleus*, *6*(5), 373-381.

Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K. et Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*, *348*(17), 1625-1638.

Campbell, T. L., Mitchell, A. S., McMillan, E. M., Bloemberg, D., Pavlov, D., Messa, I., Mielke, J. G. et Quadrilatero, J. (2015). High-fat feeding does not induce an autophagic or apoptotic phenotype in female rat skeletal muscle. *Exp Biol Med (Maywood)*, *240*(5), 657-668.

Campi, K. L. et Krubitzer, L. (2010). Comparative studies of diurnal and nocturnal rodents: differences in lifestyle result in alterations in cortical field size and number. *J Comp Neurol*, *518*(22), 4491-4512.

Casas-Agustench, P., Lopez-Uriarte, P., Bullo, M., Ros, E., Gomez-Flores, A. et Salas-Salvado, J. (2009). Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and satiety. *Clin Nutr*, *28*(1), 39-45.

Castorena, C. M., Arias, E. B., Sharma, N., Bogan, J. S. et Cartee, G. D. (2015). Fiber type effects on contraction-stimulated glucose uptake and GLUT4 abundance in single fibers from rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *308*(3), E223-230.

Castorena, C. M., Arias, E. B., Sharma, N. et Cartee, G. D. (2014). Postexercise improvement in insulin-stimulated glucose uptake occurs concomitant with greater AS160 phosphorylation in muscle from normal and insulin-resistant rats. *Diabetes*, *63*(7), 2297-2308.

Catala-Niell, A., Estrany, M. E., Proenza, A. M., Gianotti, M. et Llado, I. (2008). Skeletal muscle and liver oxidative metabolism in response to a voluntary isocaloric intake of a high fat diet in male and female rats. *Cell Physiol Biochem*, *22*(1-4), 327-336.

Cavallo, M. G., Sentinelli, F., Barchetta, I., Costantino, C., Incani, M., Perra, L., Capoccia, D., Romeo, S., Cossu, E., Leonetti, F., Agati, L. et Baroni, M. G. (2012). Altered glucose homeostasis is associated with increased serum apelin levels in type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*, *7*(12), e51236.

Chai, Y. C., Ashraf, S. S., Rokutan, K., Johnston, R. B., Jr. et Thomas, J. A. (1994). S-thiolation of individual human neutrophil proteins including actin by stimulation of the respiratory burst: evidence against a role for glutathione disulfide. *Arch Biochem Biophys*, *310*(1), 273-281.

Chalkley, S. M., Hettiarachchi, M., Chisholm, D. J. et Kraegen, E. W. (2002). Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *282*(6), E1231-1238.

Chan, A. C. (1993). Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can J Physiol Pharmacol*, *71*(9), 725-731.

Chang, S., Graham, B., Yakubu, F., Lin, D., Peters, J. C. et Hill, J. O. (1990). Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol*, *259*(6 Pt 2), R1103-1110.

Chang, Y. H., Chang, D. M., Lin, K. C., Shin, S. J. et Lee, Y. J. (2011). Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab Res Rev*, *27*(6), 515-527.

Chaolu, H., Asakawa, A., Ushikai, M., Li, Y. X., Cheng, K. C., Li, J. B., Zoshiki, T., Terashi, M., Tanaka, C., Atsuchi, K., Sakoguchi, T., Tsai, M., Amitani, H., Horiuchi, M., Takeuchi, T. et Inui, A. (2011). Effect of exercise and high-fat diet on plasma adiponectin and nesfatin levels in mice. *Exp Ther Med*, *2*(2), 369-373.

Chaput, J. P., Lambert, M., Gray-Donald, K., McGrath, J. J., Tremblay, M. S., O'Loughlin, J. et Tremblay, A. (2011). Short sleep duration is independently associated with overweight and obesity in Quebec children. *Can J Public Health*, *102*(5), 369-374.

Charradi, K., Elkahoui, S., Limam, F. et Aouani, E. (2013). High-fat diet induced an oxidative stress in white adipose tissue and disturbed plasma transition metals in rat: prevention by grape seed and skin extract. *J Physiol Sci*, *63*(6), 445-455.

Chatterjee, A. (2013). Reduced glutathione: a radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? *Nutrients*, *5*(2), 525-542.

Chelikani, P. K., Haver, A. C. et Reidelberger, R. D. (2005). Intravenous infusion of glucagon-like peptide-1 potently inhibits food intake, sham feeding, and gastric emptying in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *288*(6), R1695-1706.

Chen, H. Y., Trumbauer, M. E., Chen, A. S., Weingarth, D. T., Adams, J. R., Frazier, E. G., Shen, Z., Marsh, D. J., Feighner, S. D., Guan, X. M., Ye, Z., Nargund, R. P., Smith, R. G., Van der Ploeg, L. H., Howard, A. D., MacNeil, D. J. et

Qian, S. (2004). Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*, *145*(6), 2607-2612.

Cheng, A. J., Bruton, J. D., Lanner, J. T. et Westerblad, H. (2015). Antioxidant treatments do not improve force recovery after fatiguing stimulation of mouse skeletal muscle fibres. *J Physiol*, *593*(2), 457-472.

Cheng, H. S., Ton, S. H., Phang, S. C. W., Tan, J. B. L. et Abdul Kadir, K. (2017). Increased susceptibility of post-weaning rats on high-fat diet to metabolic syndrome. *J Adv Res*, *8*(6), 743-752.

Cheng, L., Yu, Y., Zhang, Q., Szabo, A., Wang, H. et Huang, X. F. (2015). Arachidonic acid impairs hypothalamic leptin signaling and hepatic energy homeostasis in mice. *Mol Cell Endocrinol*, *412*, 12-18.

Cheung, C. C., Clifton, D. K. et Steiner, R. A. (1997). Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology*, *138*(10), 4489-4492.

Chow, L., From, A. et Seaquist, E. (2010). Skeletal muscle insulin resistance: the interplay of local lipid excess and mitochondrial dysfunction. *Metabolism*, *59*(1), 70-85.

Chrysohoou, C., Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Skoumas, I., Papademetriou, L., Economou, M. et Stefanadis, C. (2007). The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, *17*(8), 590-597.

Church, T. S., Kuk, J. L., Ross, R., Priest, E. L., Biltoft, E. et Blair, S. N. (2006). Association of cardiorespiratory fitness, body mass index, and waist circumference to nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, *130*(7), 2023-2030.

Ciapaite, J., van den Berg, S. A., Houten, S. M., Nicolay, K., van Dijk, K. W. et Jeneson, J. A. (2015). Fiber-type-specific sensitivities and phenotypic adaptations to dietary fat overload differentially impact fast- versus slow-twitch muscle contractile function in C57BL/6J mice. *J Nutr Biochem*, *26*(2), 155-164.

Cifani, C., Micioni Di Bonaventura, M. V., Pucci, M., Giusepponi, M. E., Romano, A., Di Francesco, A., Maccarrone, M. et D'Addario, C. (2015). Regulation of hypothalamic neuropeptides gene expression in diet induced obesity resistant rats: possible targets for obesity prediction? *Front Neurosci*, *9*, 187.

Circu, M. L. et Aw, T. Y. (2012). Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, *1823*(10), 1767-1777.

Clegg, D. J., Gotoh, K., Kemp, C., Wortman, M. D., Benoit, S. C., Brown, L. M., D'Alessio, D., Tso, P., Seeley, R. J. et Woods, S. C. (2011). Consumption of a high-fat diet induces central insulin resistance independent of adiposity. *Physiol Behav*, *103*(1), 10-16.

Coll, A. P., Farooqi, I. S. et O'Rahilly, S. (2007). The hormonal control of food intake. *Cell*, *129*(2), 251-262.

Colley, R. C., Carson, V., Garriguet, D., Janssen, I., Roberts, K. C. et Tremblay, M. S. (2017). Physical activity of Canadian children and youth, 2007 to 2015. *Health Rep*, *28*(10), 8-16.

Collins, K. H., Hart, D. A., Smith, I. C., Issler, A. M., Reimer, R. A., Seerattan, R. A., Rios, J. L. et Herzog, W. (2017). Acute and chronic changes in rat soleus muscle after high-fat high-sucrose diet. *Physiol Rep*, *5*(10).

Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Marco, C. C., McKee, L. J., Bauer, T. L. et et al. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*, *334*(5), 292-295.

Cordeira, J. W., Frank, L., Sena-Esteves, M., Pothos, E. N. et Rios, M. (2010). Brain-derived neurotrophic factor regulates hedonic feeding by acting on the mesolimbic dopamine system. *J Neurosci*, *30*(7), 2533-2541.

Cotton, J. R., Burley, V. J., Weststrate, J. A. et Blundell, J. E. (2007). Dietary fat and appetite: similarities and differences in the satiating effect of meals supplemented with either fat or carbohydrate. *J Hum Nutr Diet*, *20*(3), 186-199.

Covasa, M., Grahn, J. et Ritter, R. C. (2000). High fat maintenance diet attenuates hindbrain neuronal response to CCK. *Regul Pept*, *86*(1-3), 83-88.

Covasa, M. et Ritter, R. C. (1998). Rats maintained on high-fat diets exhibit reduced satiety in response to CCK and bombesin. *Peptides*, *19*(8), 1407-1415.

Covasa, M. et Ritter, R. C. (2000). Adaptation to high-fat diet reduces inhibition of gastric emptying by CCK and intestinal oleate. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *278*(1), R166-170.

Covington, J. D., Johannsen, D. L., Coen, P. M., Burk, D. H., Obanda, D. N., Ebenezer, P. J., Tam, C. S., Goodpaster, B. H., Ravussin, E. et Bajpeyi, S. (2017). Intramyocellular Lipid Droplet Size Rather Than Total Lipid Content is Related to Insulin Sensitivity After 8 Weeks of Overfeeding. *Obesity (Silver Spring)*, *25*(12), 2079-2087.

Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdan, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., Cone, R. D. et Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, *411*(6836), 480-484.

Crystal, S. R. et Teff, K. L. (2006). Tasting fat: cephalic phase hormonal responses and food intake in restrained and unrestrained eaters. *Physiol Behav*, *89*(2), 213-220.

Cummings, D. E., Frayo, R. S., Marmonier, C., Aubert, R. et Chapelot, D. (2004). Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *287*(2), E297-304.

Dalle Grave, R., Calugi, S., Centis, E., Marzocchi, R., El Ghoch, M. et Marchesini, G. (2010). Lifestyle modification in the management of the metabolic syndrome: achievements and challenges. *Diabetes Metab Syndr Obes*, *3*, 373-385.

Dalvi, P. S., Chalmers, J. A., Luo, V., Han, D. Y., Wellhauser, L., Liu, Y., Tran, D. Q., Castel, J., Luquet, S., Wheeler, M. B. et Belsham, D. D. (2017). High fat induces acute and chronic inflammation in the hypothalamus: effect of high-fat diet, palmitate and TNF-alpha on appetite-regulating NPY neurons. *Int J Obes (Lond)*, *41*(1), 149-158.

de Castro, U. G., dos Santos, R. A., Silva, M. E., de Lima, W. G., Campagnole-Santos, M. J. et Alzamora, A. C. (2013). Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids Health Dis*, *12*, 136.

de Git, K. C. et Adan, R. A. (2015). Leptin resistance in diet-induced obesity: the role of hypothalamic inflammation. *Obes Rev*, *16*(3), 207-224.

de Noronha, S. R., Campos, G. V., Abreu, A. R., de Souza, A. A., Chianca, D. A., Jr. et de Menezes, R. C. (2017). High fat diet induced-obesity facilitates anxiety-like behaviors due to GABAergic impairment within the dorsomedial hypothalamus in rats. *Behav Brain Res*, *316*, 38-46.

de Paula Brotto, M., van Leyen, S. A., Brotto, L. S., Jin, J. P., Nosek, C. M. et Nosek, T. M. (2001). Hypoxia/fatigue-induced degradation of troponin I and troponin C: new insights into physiologic muscle fatigue. *Pflugers Arch*, *442*(5), 738-744.

de Souza, R. J., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, A. I., Ha, V., Kishibe, T., Uleryk, E., Budylowski, P., Schunemann, H., Beyene, J. et Anand, S. S. (2015). Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*, *351*, h3978.

de Souza, R. J., Swain, J. F., Appel, L. J. et Sacks, F. M. (2008). Alternatives for macronutrient intake and chronic disease: a comparison of the OmniHeart diets with popular diets and with dietary recommendations. *Am J Clin Nutr*, *88*(1), 1-11.

de Wilde, J., Mohren, R., van den Berg, S., Boekschoten, M., Dijk, K. W., de Groot, P., Muller, M., Mariman, E. et Smit, E. (2008). Short-term high fat-feeding results in morphological and metabolic adaptations in the skeletal muscle of C57BL/6J mice. *Physiol Genomics*, *32*(3), 360-369.

DeLany, J. P., Windhauser, M. M., Champagne, C. M. et Bray, G. A. (2000). Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*, *72*(4), 905-911.

Delarue, J., LeFoll, C., Corporeau, C. et Lucas, D. (2004). N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: a nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity? *Reprod Nutr Dev*, *44*(3), 289-299.

Delhanty, P. J., Sun, Y., Visser, J. A., van Kerkwijk, A., Huisman, M., van Ijcken, W. F., Swagemakers, S., Smith, R. G., Themmen, A. P. et van der Lely, A. J. (2010). Unacylated ghrelin rapidly modulates lipogenic and insulin signaling pathway gene expression in metabolically active tissues of GHSR deleted mice. *PLoS One*, *5*(7), e11749.

della Rovere, F., Granata, A., Saija, A., Broccio, M., Tomaino, A., Zirilli, A., De Caridi, G. et Broccio, G. (2000). -SH groups and glutathione in cancer patient's blood. *Anticancer Res*, *20*(3A), 1595-1598.

Delp, M. D. et Duan, C. (1996). Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol (1985)*, *80*(1), 261-270.

Delp, M. D., Duan, C., Mattson, J. P. et Musch, T. I. (1997). Changes in skeletal muscle biochemistry and histology relative to fiber type in rats with heart failure. *J Appl Physiol (1985)*, *83*(4), 1291-1299.

Deneke, S. M. et Fanburg, B. L. (1989). Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol*, *257*(4 Pt 1), L163-173.

Denies, M. S., Johnson, J., Maliphol, A. B., Bruno, M., Kim, A., Rizvi, A., Rustici, K. et Medler, S. (2014). Diet-induced obesity alters skeletal muscle fiber types of male but not female mice. *Physiol Rep*, *2*(1), e00204.

Deol, P., Evans, J. R., Dhahbi, J., Chellappa, K., Han, D. S., Spindler, S. et Sladek, F. M. (2015). Soybean Oil Is More Obesogenic and Diabetogenic than Coconut Oil and Fructose in Mouse: Potential Role for the Liver. *PLoS One*, *10*(7), e0132672.

Di Meo, S., Iossa, S. et Venditti, P. (2017). Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol*, *233*(1), R15-R42.

Dickerhof, N., Pearson, J. F., Hoskin, T. S., Berry, L. J., Turner, R., Sly, P. D. et Kettle, A. J. (2017). Oxidative stress in early cystic fibrosis lung disease is exacerbated by airway glutathione deficiency. *Free Radic Biol Med*, *113*, 236-243.

Dobbs, R., Sawers, C., Thompson, F., Manyika, J., Woetzel, J., Child, P., McKenna, S. et Spatharou, A. (2014). *Overcoming obesity: An initial economic analysis*. McKinsey Global Institute.

Donovan, M. J., Paulino, G. et Raybould, H. E. (2007). CCK(1) receptor is essential for normal meal patterning in mice fed high fat diet. *Physiol Behav*, *92*(5), 969-974.

Dresner, A., Laurent, D., Marcucci, M., Griffin, M. E., Dufour, S., Cline, G. W., Slezak, L. A., Andersen, D. K., Hundal, R. S., Rothman, D. L., Petersen, K. F. et Shulman, G. I. (1999). Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest*, *103*(2), 253-259.

Druet, C., Stettler, N., Sharp, S., Simmons, R. K., Cooper, C., Smith, G. D., Ekelund, U., Levy-Marchal, C., Jarvelin, M. R., Kuh, D. et Ong, K. K. (2012). Prediction of childhood obesity by infancy weight gain: an individual-level meta-analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol*, *26*(1), 19-26.

Duca, F. A., Swartz, T. D., Sakar, Y. et Covasa, M. (2013). Decreased intestinal nutrient response in diet-induced obese rats: role of gut peptides and nutrient receptors. *Int J Obes (Lond)*, *37*(3), 375-381.

Duca, F. A., Zhong, L. et Covasa, M. (2013). Reduced CCK signaling in obese-prone rats fed a high fat diet. *Horm Behav*, *64*(5), 812-817.

Duchateau, J. et Baudry, S. (2014). Maximal discharge rate of motor units determines the maximal rate of force development during ballistic contractions in human. *Front Hum Neurosci*, *8*, 234.

Dunn, S. E., Simard, A. R., Bassel-Duby, R., Williams, R. S. et Michel, R. N. (2001). Nerve activity-dependent modulation of calcineurin signaling in adult fast and slow skeletal muscle fibers. *J Biol Chem*, *276*(48), 45243-45254.

Dutheil, S., Ota, K. T., Wohleb, E. S., Rasmussen, K. et Duman, R. S. (2016). High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*, *41*(7), 1874-1887.

Eder, K., Baffy, N., Falus, A. et Fulop, A. K. (2009). The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res*, *58*(11), 727-736.

Edholm, T., Degerblad, M., Gryback, P., Hilsted, L., Holst, J. J., Jacobsson, H., Efendic, S., Schmidt, P. T. et Hellstrom, P. M. (2010). Differential incretin effects of GIP and GLP-1 on gastric emptying, appetite, and insulin-glucose homeostasis. *Neurogastroenterol Motil*, *22*(11), 1191-1200, e1315.

Eng, C. M., Smallwood, L. H., Rainiero, M. P., Lahey, M., Ward, S. R. et Lieber, R. L. (2008). Scaling of muscle architecture and fiber types in the rat hindlimb. *J Exp Biol*, *211*(Pt 14), 2336-2345.

Enriori, P. J., Evans, A. E., Sinnayah, P., Jobst, E. E., Tonelli-Lemos, L., Billes, S. K., Glavas, M. M., Grayson, B. E., Perello, M., Nillni, E. A., Grove, K. L. et Cowley, M. A. (2007). Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. *Cell Metab*, *5*(3), 181-194.

Erdos, B., Kirichenko, N., Whidden, M., Basgut, B., Woods, M., Cudykier, I., Tawil, R., Scarpace, P. J. et Tumer, N. (2011). Effect of age on high-fat diet-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *301*(1), H164-172.

Eshima, H., Tamura, Y., Kakehi, S., Kurebayashi, N., Murayama, T., Nakamura, K., Kakigi, R., Okada, T., Sakurai, T., Kawamori, R. et Watada, H. (2017). Long-

term, but not short-term high-fat diet induces fiber composition changes and impaired contractile force in mouse fast-twitch skeletal muscle. *Physiol Rep*, *5*(7).

Estrela, J. M., Ortega, A. et Obrador, E. (2006). Glutathione in cancer biology and therapy. *Crit Rev Clin Lab Sci*, *43*(2), 143-181.

Faber, P., Johnstone, A. M., Gibney, E. R., Elia, M., Stubbs, R. J., Duthie, G. G., Calder, A. G. et Lobley, G. E. (2002). The effect of rate of weight loss on erythrocyte glutathione concentration and synthesis in healthy obese men. *Clin Sci (Lond)*, *102*(5), 569-577.

Fain, J. N., Tichansky, D. S. et Madan, A. K. (2005). Transforming growth factor beta1 release by human adipose tissue is enhanced in obesity. *Metabolism*, *54*(11), 1546-1551.

Fam, B. C., Morris, M. J., Hansen, M. J., Kebede, M., Andrikopoulos, S., Proietto, J. et Thorburn, A. W. (2007). Modulation of central leptin sensitivity and energy balance in a rat model of diet-induced obesity. *Diabetes Obes Metab*, *9*(6), 840-852.

Farley, C., Cook, J. A., Spar, B. D., Austin, T. M. et Kowalski, T. J. (2003). Meal pattern analysis of diet-induced obesity in susceptible and resistant rats. *Obes Res*, *11*(7), 845-851.

Farr, O. M., Gavrieli, A. et Mantzoros, C. S. (2015). Leptin applications in 2015: what have we learned about leptin and obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, *22*(5), 353-359.

Feinman, R. D. et Fine, E. J. (2004). "A calorie is a calorie" violates the second law of thermodynamics. *Nutr J*, *3*, 9.

Fillmore, N., Jacobs, D. L., Mills, D. B., Winder, W. W. et Hancock, C. R. (2010). Chronic AMP-activated protein kinase activation and a high-fat diet have an additive effect on mitochondria in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, *109*(2), 511-520.

Findeisen, H. M., Gizard, F., Zhao, Y., Qing, H., Jones, K. L., Cohn, D., Heywood, E. B. et Bruemmer, D. (2011). Glutathione depletion prevents diet-induced obesity and enhances insulin sensitivity. *Obesity (Silver Spring)*, *19*(12), 2429-2432.

Fisher-Wellman, K. H., Gilliam, L. A., Lin, C. T., Cathey, B. L., Lark, D. S. et Neufer, P. D. (2013). Mitochondrial glutathione depletion reveals a novel role for the pyruvate dehydrogenase complex as a key H2O2-emitting source under conditions of nutrient overload. *Free Radic Biol Med*, *65*, 1201-1208.

Flegal, K. M., Graubard, B. I., Williamson, D. F. et Gail, M. H. (2007). Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA*, *298*(17), 2028-2037.

Flock, M. R., Fleming, J. A. et Kris-Etherton, P. M. (2014). Macronutrient replacement options for saturated fat: effects on cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol*, *25*(1), 67-74.

Francois, M., Barde, S., Legrand, R., Lucas, N., Azhar, S., El Dhaybi, M., Guerin, C., Hokfelt, T., Dechelotte, P., Coeffier, M. et Fetissov, S. O. (2016). High-fat diet increases ghrelin-expressing cells in stomach, contributing to obesity. *Nutrition*, *32*(6), 709-715.

Franklin, J., Denyer, G., Steinbeck, K. S., Caterson, I. D. et Hill, A. J. (2006). Obesity and risk of low self-esteem: a statewide survey of Australian children. *Pediatrics*, *118*(6), 2481-2487.

Franks, P. W., Hanson, R. L., Knowler, W. C., Sievers, M. L., Bennett, P. H. et Looker, H. C. (2010). Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death. *N Engl J Med*, *362*(6), 485-493.

Frontera, W. R. et Ochala, J. (2015). Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int*, *96*(3), 183-195.

Fryer, M. W., Owen, V. J., Lamb, G. D. et Stephenson, D. G. (1995). Effects of creatine phosphate and P(i) on Ca2+ movements and tension development in rat skinned skeletal muscle fibres. *J Physiol*, *482 (Pt 1)*, 123-140.

Fu, J., Gaetani, S., Oveisi, F., Lo Verme, J., Serrano, A., Rodriguez De Fonseca, F., Rosengarth, A., Luecke, H., Di Giacomo, B., Tarzia, G. et Piomelli, D. (2003). Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature*, *425*(6953), 90-93.

Fujimoto, K., Cardelli, J. A. et Tso, P. (1992). Increased apolipoprotein A-IV in rat mesenteric lymph after lipid meal acts as a physiological signal for satiation. *Am J Physiol*, *262*(6 Pt 1), G1002-1006.

Furnes, M. W., Zhao, C. M. et Chen, D. (2009). Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A study of high-fat diet-induced obesity in young rats. *Obes Surg*, *19*(10), 1430-1438.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M. et Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*, *114*(12), 1752-1761.

Gabriely, I., Ma, X. H., Yang, X. M., Atzmon, G., Rajala, M. W., Berg, A. H., Scherer, P., Rossetti, L. et Barzilai, N. (2002). Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes*, *51*(10), 2951-2958.

Gaillard, D., Negrel, R., Lagarde, M. et Ailhaud, G. (1989). Requirement and role of arachidonic acid in the differentiation of pre-adipose cells. *Biochem J*, *257*(2), 389-397.

Gaillard, D., Passilly-Degrace, P. et Besnard, P. (2008). Molecular mechanisms of fat preference and overeating. *Ann N Y Acad Sci*, *1141*, 163-175.

Galassetti, P. (2012). Inflammation and oxidative stress in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. *Exp Diabetes Res*, *2012*, 943706.

Galinska-Rakoczy, A., Engel, P., Xu, C., Jung, H., Craig, R., Tobacman, L. S. et Lehman, W. (2008). Structural basis for the regulation of muscle contraction by troponin and tropomyosin. *J Mol Biol*, *379*(5), 929-935.

Gamcsik, M. P., Kasibhatla, M. S., Teeter, S. D. et Colvin, O. M. (2012). Glutathione levels in human tumors. *Biomarkers*, *17*(8), 671-691.

Gannon, M. C., Nuttall, F. Q., Westphal, S. A. et Seaquist, E. R. (1993). The effect of fat and carbohydrate on plasma glucose, insulin, C-peptide, and triglycerides in normal male subjects. *J Am Coll Nutr*, *12*(1), 36-41.

Gao, Z., Hwang, D., Bataille, F., Lefevre, M., York, D., Quon, M. J. et Ye, J. (2002). Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J Biol Chem*, *277*(50), 48115-48121.

Garcia-Garcia, A., Rodriguez-Rocha, H., Madayiputhiya, N., Pappa, A., Panayiotidis, M. I. et Franco, R. (2012). Biomarkers of protein oxidation in human disease. *Curr Mol Med*, *12*(6), 681-697.

Garvey, W. T., Maianu, L., Zhu, J. H., Brechtel-Hook, G., Wallace, P. et Baron, A. D. (1998). Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. *J Clin Invest*, *101*(11), 2377-2386.

Gaster, M., Rustan, A. C. et Beck-Nielsen, H. (2005). Differential utilization of saturated palmitate and unsaturated oleate: evidence from cultured myotubes. *Diabetes*, *54*(3), 648-656.

Geliebter, A. (1988). Gastric distension and gastric capacity in relation to food intake in humans. *Physiol Behav*, *44*(4-5), 665-668.

Germain, N., Galusca, B., Grouselle, D., Frere, D., Tolle, V., Zizzari, P., Lang, F., Epelbaum, J. et Estour, B. (2009). Ghrelin/obestatin ratio in two populations with low bodyweight: constitutional thinness and anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, *34*(3), 413-419.

Gibbons, C., Finlayson, G., Caudwell, P., Webb, D. L., Hellstrom, P. M., Naslund, E. et Blundell, J. E. (2016). Postprandial profiles of CCK after high fat and high carbohydrate meals and the relationship to satiety in humans. *Peptides*, *77*, 3-8.

Gil-Lozano, M., Wu, W. K., Martchenko, A. et Brubaker, P. L. (2016). High-Fat Diet and Palmitate Alter the Rhythmic Secretion of Glucagon-Like Peptide-1 by the Rodent L-cell. *Endocrinology*, *157*(2), 586-599.

Giles, E. D., Jackman, M. R. et MacLean, P. S. (2016). Modeling Diet-Induced Obesity with Obesity-Prone Rats: Implications for Studies in Females. *Front Nutr*, *3*, 50.

Gillies, A. R. et Lieber, R. L. (2011). Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve*, *44*(3), 318-331.

Gomez, G., Han, S., Englander, E. W. et Greeley, G. H., Jr. (2012). Influence of a long-term high-fat diet on ghrelin secretion and ghrelin-induced food intake in rats. *Regul Pept*, *173*(1-3), 60-63.

Goodman, C. A. et Stephenson, G. M. (2000). Glycogen stability and glycogen phosphorylase activities in isolated skeletal muscles from rat and toad. *J Muscle Res Cell Motil*, *21*(7), 655-662.

Gortan Cappellari, G., Zanetti, M., Semolic, A., Vinci, P., Ruozi, G., Falcione, A., Filigheddu, N., Guarnieri, G., Graziani, A., Giacca, M. et Barazzoni, R.

(2016). Unacylated Ghrelin Reduces Skeletal Muscle Reactive Oxygen Species Generation and Inflammation and Prevents High-Fat Diet-Induced Hyperglycemia and Whole-Body Insulin Resistance in Rodents. *Diabetes*, *65*(4), 874-886.

Gould, N. S. et Day, B. J. (2011). Targeting maladaptive glutathione responses in lung disease. *Biochem Pharmacol*, *81*(2), 187-193.

Gourcerol, G. et Tache, Y. (2007). Obestatin--a ghrelin-associated peptide that does not hold its promise to suppress food intake and motility. *Neurogastroenterol Motil*, *19*(3), 161-165.

Gouspillou, G., Sgarioto, N., Norris, B., Barbat-Artigas, S., Aubertin-Leheudre, M., Morais, J. A., Burelle, Y., Taivassalo, T. et Hepple, R. T. (2014). The relationship between muscle fiber type-specific PGC-1alpha content and mitochondrial content varies between rodent models and humans. *PLoS One*, *9*(8), e103044.

Govindaraj, J. et Sorimuthu Pillai, S. (2015). Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, *404*(1-2), 143-159.

Goyal, R., Singhai, M. et Faizy, A. F. (2011). Glutathione peroxidase activity in obese and nonobese diabetic patients and role of hyperglycemia in oxidative stress. *J Midlife Health*, *2*(2), 72-76.

Granata, R., Gallo, D., Luque, R. M., Baragli, A., Scarlatti, F., Grande, C., Gesmundo, I., Cordoba-Chacon, J., Bergandi, L., Settanni, F., Togliatto, G., Volante, M., Garetto, S., Annunziata, M., Chanclon, B., Gargantini, E., Rocchietto, S., Matera, L., Datta, G., Morino, M., Brizzi, M. F., Ong, H., Camussi, G., Castano, J. P., Papotti, M. et Ghigo, E. (2012). Obestatin regulates adipocyte function and protects against diet-induced insulin resistance and inflammation. *FASEB J*, *26*(8), 3393-3411.

Greenway, F. L. (2015). Physiological adaptations to weight loss and factors favouring weight regain. *Int J Obes (Lond)*, *39*(8), 1188-1196.

Griffith, O. W. (1999). Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med*, *27*(9-10), 922-935.

Griffith, O. W. et Meister, A. (1979). Potent and specific inhibition of glutathione synthesis by buthionine sulfoximine (S-n-butyl homocysteine sulfoximine). *J Biol Chem*, *254*(16), 7558-7560.

Gropp, E., Shanabrough, M., Borok, E., Xu, A. W., Janoschek, R., Buch, T., Plum, L., Balthasar, N., Hampel, B., Waisman, A., Barsh, G. S., Horvath, T. L. et Bruning, J. C. (2005). Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. *Nat Neurosci*, *8*(10), 1289-1291.

Guan, Z., Vgontzas, A. N., Bixler, E. O. et Fang, J. (2008). Sleep is increased by weight gain and decreased by weight loss in mice. *Sleep*, *31*(5), 627-633.

Guerra, C., Morris, D., Sipin, A., Kung, S., Franklin, M., Gray, D., Tanzil, M., Guilford, F., Khasawneh, F. T. et Venketaraman, V. (2011). Glutathione and adaptive immune responses against Mycobacterium tuberculosis infection in healthy and HIV infected individuals. *PLoS One*, *6*(12), e28378.

Gungor, N., Thompson, T., Sutton-Tyrrell, K., Janosky, J. et Arslanian, S. (2005). Early signs of cardiovascular disease in youth with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *28*(5), 1219-1221.

Guo, Z. F., Zheng, X., Qin, Y. W., Hu, J. Q., Chen, S. P. et Zhang, Z. (2007). Circulating preprandial ghrelin to obestatin ratio is increased in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, *92*(5), 1875-1880.

Gupta, A., Srinivasan, M., Thamadilok, S. et Patel, M. S. (2009). Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats. *J Endocrinol*, *200*(3), 293-300.

Hack, V., Gross, A., Kinscherf, R., Bockstette, M., Fiers, W., Berke, G. et Droge, W. (1996). Abnormal glutathione and sulfate levels after interleukin 6 treatment and in tumor-induced cachexia. *FASEB J*, *10*(10), 1219-1226.

Hagan, M. M., Rushing, P. A., Benoit, S. C., Woods, S. C. et Seeley, R. J. (2001). Opioid receptor involvement in the effect of AgRP- (83-132) on food intake and food selection. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *280*(3), R814-821.

Haghshenas, R., Jafari, M., Ravasi, A., Kordi, M., Gilani, N., Shariatzadeh, M., Hedayati, M. et Rahimi, M. (2014). The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci*, *17*(4), 237-243.

Halton, T. L. et Hu, F. B. (2004). The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: a critical review. *J Am Coll Nutr*, *23*(5), 373-385.

Han, Y. S., Geiger, P. C., Cody, M. J., Macken, R. L. et Sieck, G. C. (2003). ATP consumption rate per cross bridge depends on myosin heavy chain isoform. *J Appl Physiol (1985)*, *94*(6), 2188-2196.

Hancock, C. R., Han, D. H., Chen, M., Terada, S., Yasuda, T., Wright, D. C. et Holloszy, J. O. (2008). High-fat diets cause insulin resistance despite an increase in muscle mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(22), 7815-7820.

Handjieva-Darlenska, T. et Boyadjieva, N. (2009). The effect of high-fat diet on plasma ghrelin and leptin levels in rats. *J Physiol Biochem*, *65*(2), 157-164.

Hargrave, S. L. et Kinzig, K. P. (2012). Repeated gastric distension alters food intake and neuroendocrine profiles in rats. *Physiol Behav*, *105*(4), 975-981.

Hariri, N., Gougeon, R. et Thibault, L. (2010). A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. *Nutr Res*, *30*(9), 632-643.

Harris, R. B. et Kor, H. (1992). Insulin insensitivity is rapidly reversed in rats by reducing dietary fat from 40 to 30% of energy. *J Nutr*, *122*(9), 1811-1822.

Harrold, J. A., Williams, G. et Widdowson, P. S. (2000). Early leptin response to a palatable diet predicts dietary obesity in rats: key role of melanocortin-4 receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus. *J Neurochem*, *74*(3), 1224-1228.

Hartman, L., Shorland, F. B. et McDonald, I. R. (1955). The trans-unsaturated acid contents of fats of ruminants and non-ruminants. *Biochem J*, *61*(4), 603-607.

Hassouna, R., Zizzari, P. et Tolle, V. (2010). The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. *J Neuroendocrinol*, *22*(7), 793-804.

Hebert, J. R., Patterson, R. E., Gorfine, M., Ebbeling, C. B., St Jeor, S. T. et Chlebowski, R. T. (2003). Differences between estimated caloric requirements and self-reported caloric intake in the women's health initiative. *Ann Epidemiol*, *13*(9), 629-637.

Hesketh, K. D. et Campbell, K. J. (2010). Interventions to prevent obesity in 0-5 year olds: an updated systematic review of the literature. *Obesity (Silver Spring), 18 Suppl 1*, S27-35.

Hill, C. A., Thompson, M. W., Ruell, P. A., Thom, J. M. et White, M. J. (2001). Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. *J Physiol, 531*(Pt 3), 871-878.

Holland, W. L., Miller, R. A., Wang, Z. V., Sun, K., Barth, B. M., Bui, H. H., Davis, K. E., Bikman, B. T., Halberg, N., Rutkowski, J. M., Wade, M. R., Tenorio, V. M., Kuo, M. S., Brozinick, J. T., Zhang, B. B., Birnbaum, M. J., Summers, S. A. et Scherer, P. E. (2011). Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. *Nat Med, 17*(1), 55-63.

Holness, M. J., Greenwood, G. K., Smith, N. D. et Sugden, M. C. (2003). Diabetogenic impact of long-chain omega-3 fatty acids on pancreatic beta-cell function and the regulation of endogenous glucose production. *Endocrinology, 144*(9), 3958-3968.

Hooper, L., Martin, N., Abdelhamid, A. et Davey Smith, G. (2015). Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*, (6), CD011737.

Houstis, N., Rosen, E. D. et Lander, E. S. (2006). Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature, 440*(7086), 944-948.

Hua, N., Takahashi, H., Yee, G. M., Kitajima, Y., Katagiri, S., Kojima, M., Anzai, K., Eguchi, Y. et Hamilton, J. A. (2017). Influence of muscle fiber type composition on early fat accumulation under high-fat diet challenge. *PLoS One, 12*(8), e0182430.

Huang, C. W., Chien, Y. S., Chen, Y. J., Ajuwon, K. M., Mersmann, H. M. et Ding, S. T. (2016). Role of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Ameliorating the Obesity-Induced Metabolic Syndrome in Animal Models and Humans. *Int J Mol Sci, 17*(10).

Huang, S., Jin, L., Shen, J., Shang, P., Jiang, X. et Wang, X. (2016). Electrical stimulation influences chronic intermittent hypoxia-hypercapnia induction of muscle fibre transformation by regulating the microRNA/Sox6 pathway. *Sci Rep, 6*, 26415.

Hussain, S. S. et Bloom, S. R. (2013). The regulation of food intake by the gut-brain axis: implications for obesity. *Int J Obes (Lond)*, *37*(5), 625-633.

Hussain, Z. et Khan, J. A. (2017). Food intake regulation by leptin: Mechanisms mediating gluconeogenesis and energy expenditure. *Asian Pac J Trop Med*, *10*(10), 940-944.

Iikuni, N., Lam, Q. L., Lu, L., Matarese, G. et La Cava, A. (2008). Leptin and Inflammation. *Curr Immunol Rev*, *4*(2), 70-79.

Iqbal, M. P. (2014). Trans fatty acids - A risk factor for cardiovascular disease. *Pak J Med Sci*, *30*(1), 194-197.

Iwasa, T., Matsuzaki, T., Yano, K. et Irahara, M. (2018). The effects of ovariectomy and lifelong high-fat diet consumption on body weight, appetite, and lifespan in female rats. *Horm Behav*, *97*, 25-30.

Jackman, M. R., Kramer, R. E., MacLean, P. S. et Bessesen, D. H. (2006). Trafficking of dietary fat in obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *291*(5), E1083-1091.

Jackman, M. R., MacLean, P. S. et Bessesen, D. H. (2010). Energy expenditure in obesity-prone and obesity-resistant rats before and after the introduction of a high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *299*(4), R1097-1105.

Jenkins, J. B., Omori, T., Guan, Z., Vgontzas, A. N., Bixler, E. O. et Fang, J. (2006). Sleep is increased in mice with obesity induced by high-fat food. *Physiol Behav*, *87*(2), 255-262.

Jessri, M., Nishi, S. K. et L'Abbe, M. R. (2015). Assessing the Nutritional Quality of Diets of Canadian Adults Using the 2014 Health Canada Surveillance Tool Tier System. *Nutrients*, *7*(12), 10447-10468.

Jessri, M., Nishi, S. K. et L'Abbe, M. R. (2016). Assessing the nutritional quality of diets of Canadian children and adolescents using the 2014 Health Canada Surveillance Tool Tier System. *BMC Public Health*, *16*, 381.

Jesudason, D. R., Monteiro, M. P., McGowan, B. M., Neary, N. M., Park, A. J., Philippou, E., Small, C. J., Frost, G. S., Ghatei, M. A. et Bloom, S. R. (2007). Low-dose pancreatic polypeptide inhibits food intake in man. *Br J Nutr*, *97*(3), 426-429.

Johnson, P. M. et Kenny, P. J. (2010). Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat Neurosci*, *13*(5), 635-641.

Kakehi, S., Tamura, Y., Takeno, K., Sakurai, Y., Kawaguchi, M., Watanabe, T., Funayama, T., Sato, F., Ikeda, S., Kanazawa, A., Fujitani, Y., Kawamori, R. et Watada, H. (2016). Increased intramyocellular lipid/impaired insulin sensitivity is associated with altered lipid metabolic genes in muscle of high responders to a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *310*(1), E32-40.

Kaneko, S., Iida, R. H., Suga, T., Fukui, T., Morito, M. et Yamane, A. (2011). Changes in triacylglycerol-accumulated fiber type, fiber type composition, and biogenesis in the mitochondria of the soleus muscle in obese rats. *Anat Rec (Hoboken)*, *294*(11), 1904-1912.

Karatzaferi, C., de Haan, A., Ferguson, R. A., van Mechelen, W. et Sargeant, A. J. (2001). Phosphocreatine and ATP content in human single muscle fibres before and after maximum dynamic exercise. *Pflugers Arch*, *442*(3), 467-474.

Karelis, A. D., St-Pierre, D. H., Conus, F., Rabasa-Lhoret, R. et Poehlman, E. T. (2004). Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J Clin Endocrinol Metab*, *89*(6), 2569-2575.

Kasper, J. M., Johnson, S. B. et Hommel, J. D. (2014). Fat Preference: a novel model of eating behavior in rats. *J Vis Exp*, (88), e51575.

Kawano, K., Hirashima, T., Mori, S. et Natori, T. (1994). OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain. *Diabetes Res Clin Pract*, *24 Suppl*, S317-320.

Kazafeos, K. (2011). Incretin effect: GLP-1, GIP, DPP4. *Diabetes Res Clin Pract*, *93 Suppl 1*, S32-36.

Keane, E., Layte, R., Harrington, J., Kearney, P. M. et Perry, I. J. (2012). Measured parental weight status and familial socio-economic status correlates with childhood overweight and obesity at age 9. *PLoS One*, *7*(8), e43503.

Kelli, H. M., Corrigan, F. E., 3rd, Heinl, R. E., Dhindsa, D. S., Hammadah, M., Samman-Tahhan, A., Sandesara, P., O'Neal, W. T., Al Mheid, I., Ko, Y. A., Vaccarino, V., Ziegler, T. R., Sperling, L. S., Brigham, K., Jones, D., Martin, G. S. et Quyyumi, A. A. (2017). Relation of Changes in Body Fat Distribution to Oxidative Stress. *Am J Cardiol*, *120*(12), 2289-2293.

Kendig, E. L., Chen, Y., Krishan, M., Johansson, E., Schneider, S. N., Genter, M. B., Nebert, D. W. et Shertzer, H. G. (2011). Lipid metabolism and body composition in Gclm(-/-) mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, *257*(3), 338-348.

Kentish, S. J., Vincent, A. D., Kennaway, D. J., Wittert, G. A. et Page, A. J. (2016). High-Fat Diet-Induced Obesity Ablates Gastric Vagal Afferent Circadian Rhythms. *J Neurosci*, *36*(11), 3199-3207.

Kerper, L. E., Mokrzan, E. M., Clarkson, T. W. et Ballatori, N. (1996). Methylmercury efflux from brain capillary endothelial cells is modulated by intracellular glutathione but not ATP. *Toxicol Appl Pharmacol*, *141*(2), 526-531.

Khaleel, E. F. et Abdel-Aleem, G. A. (2018). Obestatin protects and reverses nonalcoholic fatty liver disease and its associated insulin resistance in rats via inhibition of food intake, enhancing hepatic adiponectin signaling, and blocking ghrelin acylation. *Arch Physiol Biochem*, 1-15.

Kien, C. L. et Bunn, J. Y. (2008). Gender alters the effects of palmitate and oleate on fat oxidation and energy expenditure. *Obesity (Silver Spring)*, *16*(1), 29-33.

Kien, C. L., Bunn, J. Y. et Ugrasbul, F. (2005). Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure. *Am J Clin Nutr*, *82*(2), 320-326.

Kim, S. R., Bae, Y. H., Bae, S. K., Choi, K. S., Yoon, K. H., Koo, T. H., Jang, H. O., Yun, I., Kim, K. W., Kwon, Y. G., Yoo, M. A. et Bae, M. K. (2008). Visfatin enhances ICAM-1 and VCAM-1 expression through ROS-dependent NF-kappaB activation in endothelial cells. *Biochim Biophys Acta*, *1783*(5), 886-895.

King, A. J. (2012). The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol*, *166*(3), 877-894.

Kinney, N. E. et Antill, R. W. (1996). Role of olfaction in the formation of preference for high-fat foods in mice. *Physiol Behav*, *59*(3), 475-478.

Klein, S., Burke, L. E., Bray, G. A., Blair, S., Allison, D. B., Pi-Sunyer, X., Hong, Y. et Eckel, R. H. (2004). Clinical implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: a statement for professionals from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism: endorsed by the American College of Cardiology Foundation. *Circulation*, *110*(18), 2952-2967.

Kline, J. C. et De Luca, C. J. (2016). Synchronization of motor unit firings: an epiphenomenon of firing rate characteristics not common inputs. *J Neurophysiol*, *115*(1), 178-192.

Kobayashi, H., Matsuda, M., Fukuhara, A., Komuro, R. et Shimomura, I. (2009). Dysregulated glutathione metabolism links to impaired insulin action in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *296*(6), E1326-1334.

Koch, C. E., Lowe, C., Pretz, D., Steger, J., Williams, L. M. et Tups, A. (2014). High-fat diet induces leptin resistance in leptin-deficient mice. *J Neuroendocrinol*, *26*(2), 58-67.

Koda, S., Date, Y., Murakami, N., Shimbara, T., Hanada, T., Toshinai, K., Niijima, A., Furuya, M., Inomata, N., Osuye, K. et Nakazato, M. (2005). The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology*, *146*(5), 2369-2375.

Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H. et Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, *402*(6762), 656-660.

Korek, E., Krauss, H., Gibas-Dorna, M., Kupsz, J., Piatek, M. et Piatek, J. (2013). Fasting and postprandial levels of ghrelin, leptin and insulin in lean, obese and anorexic subjects. *Prz Gastroenterol*, *8*(6), 383-389.

Kraschnewski, J. L., Boan, J., Esposito, J., Sherwood, N. E., Lehman, E. B., Kephart, D. K. et Sciamanna, C. N. (2010). Long-term weight loss maintenance in the United States. *Int J Obes (Lond)*, *34*(11), 1644-1654.

Kubant, R., Poon, A. N., Sanchez-Hernandez, D., Domenichiello, A. F., Huot, P. S., Pannia, E., Cho, C. E., Hunschede, S., Bazinet, R. P. et Anderson, G. H. (2015). A comparison of effects of lard and hydrogenated vegetable shortening on the development of high-fat diet-induced obesity in rats. *Nutr Diabetes*, *5*, e188.

Kubota, N., Yano, W., Kubota, T., Yamauchi, T., Itoh, S., Kumagai, H., Kozono, H., Takamoto, I., Okamoto, S., Shiuchi, T., Suzuki, R., Satoh, H., Tsuchida, A., Moroi, M., Sugi, K., Noda, T., Ebinuma, H., Ueta, Y., Kondo, T., Araki, E., Ezaki, O., Nagai, R., Tobe, K., Terauchi, Y., Ueki, K., Minokoshi, Y. et Kadowaki, T. (2007). Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab*, *6*(1), 55-68.

Kurtz, T. W., Morris, R. C. et Pershadsingh, H. A. (1989). The Zucker fatty rat as a genetic model of obesity and hypertension. *Hypertension*, *13*(6 Pt 2), 896-901.

Kushmerick, M. J., Moerland, T. S. et Wiseman, R. W. (1992). Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *89*(16), 7521-7525.

Kusminski, C. M., McTernan, P. G. et Kumar, S. (2005). Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)*, *109*(3), 243-256.

Kuzbicka, K. et Rachon, D. (2013). Bad eating habits as the main cause of obesity among children. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*, *19*(3), 106-110.

Kwekel, J. C., Desai, V. G., Moland, C. L., Branham, W. S. et Fuscoe, J. C. (2010). Age and sex dependent changes in liver gene expression during the life cycle of the rat. *BMC Genomics*, *11*, 675.

la Fleur, S. E., Luijendijk, M. C., van der Zwaal, E. M., Brans, M. A. et Adan, R. A. (2014). The snacking rat as model of human obesity: effects of a free-choice high-fat high-sugar diet on meal patterns. *Int J Obes (Lond)*, *38*(5), 643-649.

la Fleur, S. E., Vanderschuren, L. J., Luijendijk, M. C., Kloeze, B. M., Tiesjema, B. et Adan, R. A. (2007). A reciprocal interaction between food-motivated behavior and diet-induced obesity. *Int J Obes (Lond)*, *31*(8), 1286-1294.

Lai, M., Chandrasekera, P. C. et Barnard, N. D. (2014). You are what you eat, or are you? The challenges of translating high-fat-fed rodents to human obesity and diabetes. *Nutr Diabetes*, *4*, e135.

Lambertucci, R. H., Hirabara, S. M., Silveira Ldos, R., Levada-Pires, A. C., Curi, R. et Pithon-Curi, T. C. (2008). Palmitate increases superoxide production through mitochondrial electron transport chain and NADPH oxidase activity in skeletal muscle cells. *J Cell Physiol*, *216*(3), 796-804.

Landrier, J. F., Kasiri, E., Karkeni, E., Mihaly, J., Beke, G., Weiss, K., Lucas, R., Aydemir, G., Salles, J., Walrand, S., de Lera, A. R. et Ruhl, R. (2017). Reduced adiponectin expression after high-fat diet is associated with selective up-regulation of ALDH1A1 and further retinoic acid receptor signaling in adipose tissue. *FASEB J*, *31*(1), 203-211.

Lands, B. (2014). Historical perspectives on the impact of n-3 and n-6 nutrients on health. *Prog Lipid Res*, *55*, 17-29.

Lands, L. C., Grey, V., Smountas, A. A., Kramer, V. G. et McKenna, D. (1999). Lymphocyte glutathione levels in children with cystic fibrosis. *Chest*, *116*(1), 201-205.

Lang, C. A., Mills, B. J., Mastropaolo, W. et Liu, M. C. (2000). Blood glutathione decreases in chronic diseases. *J Lab Clin Med*, *135*(5), 402-405.

Lanza, I. R. et Sreekumaran Nair, K. (2010). Regulation of skeletal muscle mitochondrial function: genes to proteins. *Acta Physiol (Oxf)*, *199*(4), 529-547.

Larsen, S., Nielsen, J., Hansen, C. N., Nielsen, L. B., Wibrand, F., Stride, N., Schroder, H. D., Boushel, R., Helge, J. W., Dela, F. et Hey-Mogensen, M. (2012). Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *J Physiol*, *590*(14), 3349-3360.

Laurikka, A., Vuolteenaho, K., Toikkanen, V., Rinne, T., Leppanen, T., Tarkka, M., Laurikka, J. et Moilanen, E. (2014). Adipocytokine resistin correlates with oxidative stress and myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*, *46*(4), 729-736.

Lavoie, J. C., Rouleau, T., Tsopmo, A., Friel, J. et Chessex, P. (2008). Influence of lung oxidant and antioxidant status on alveolarization: role of light-exposed total parenteral nutrition. *Free Radic Biol Med*, *45*(5), 572-577.

Lawton, C. L., Delargy, H. J., Brockman, J., Smith, F. C. et Blundell, J. E. (2000). The degree of saturation of fatty acids influences post-ingestive satiety. *Br J Nutr*, *83*(5), 473-482.

le Roux, C. W., Batterham, R. L., Aylwin, S. J., Patterson, M., Borg, C. M., Wynne, K. J., Kent, A., Vincent, R. P., Gardiner, J., Ghatei, M. A. et Bloom, S. R. (2006). Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology*, *147*(1), 3-8.

le Roux, C. W., Patterson, M., Vincent, R. P., Hunt, C., Ghatei, M. A. et Bloom, S. R. (2005). Postprandial plasma ghrelin is suppressed proportional to meal calorie content in normal-weight but not obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, *90*(2), 1068-1071.

Lebow, J., Sim, L. A. et Kransdorf, L. N. (2015). Prevalence of a history of overweight and obesity in adolescents with restrictive eating disorders. *J Adolesc Health*, *56*(1), 19-24.

Leckstrom, A., Lundquist, I., Ma, Z. et Westermark, P. (1999). Islet amyloid polypeptide and insulin relationship in a longitudinal study of the genetically obese (ob/ob) mouse. *Pancreas*, *18*(3), 266-273.

Lee, M. K., Yvan-Charvet, L., Masters, S. L. et Murphy, A. J. (2016). The modern interleukin-1 superfamily: Divergent roles in obesity. *Semin Immunol*, *28*(5), 441-449.

Lee, S. R., Khamoui, A. V., Jo, E., Park, B. S., Zourdos, M. C., Panton, L. B., Ormsbee, M. J. et Kim, J. S. (2015). Effects of chronic high-fat feeding on skeletal muscle mass and function in middle-aged mice. *Aging Clin Exp Res*, *27*(4), 403-411.

Lee, W. J., Wu, C. S., Lin, H., Lee, I. T., Wu, C. M., Tseng, J. J., Chou, M. M. et Sheu, W. H. (2009). Visfatin-induced expression of inflammatory mediators in human endothelial cells through the NF-kappaB pathway. *Int J Obes (Lond)*, *33*(4), 465-472.

Lee, Y., Wang, M. Y., Kakuma, T., Wang, Z. W., Babcock, E., McCorkle, K., Higa, M., Zhou, Y. T. et Unger, R. H. (2001). Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J Biol Chem*, *276*(8), 5629-5635.

Lemarie, F., Beauchamp, E., Dayot, S., Duby, C., Legrand, P. et Rioux, V. (2015). Dietary Caprylic Acid (C8:0) Does Not Increase Plasma Acylated Ghrelin but Decreases Plasma Unacylated Ghrelin in the Rat. *PLoS One*, *10*(7), e0133600.

Levin, B. E. (1991). Spontaneous motor activity during the development and maintenance of diet-induced obesity in the rat. *Physiol Behav*, *50*(3), 573-581.

Levin, B. E. et Dunn-Meynell, A. A. (2000). Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *278*(1), R231-237.

Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A., Ricci, M. R. et Cummings, D. E. (2003). Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity-prone juvenile rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *285*(5), E949-957.

Levy, J. R., Clore, J. N. et Stevens, W. (2004). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids decrease hepatic triglycerides in Fischer 344 rats. *Hepatology*, *39*(3), 608-616.

Leyton, J., Drury, P. J. et Crawford, M. A. (1987). Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *Br J Nutr*, *57*(3), 383-393.

Li, G., Liu, J. Y., Zhang, H. X., Li, Q. et Zhang, S. W. (2015). Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity. *Physiol Res*, *64*(3), 355-367.

Li, Y., Guo, H., Wu, M. et Liu, M. (2013). Serum and dietary antioxidant status is associated with lower prevalence of the metabolic syndrome in a study in Shanghai, China. *Asia Pac J Clin Nutr*, *22*(1), 60-68.

Li, Z., Mulholland, M. et Zhang, W. (2016). Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) and energy metabolism. *Sci China Life Sci*, *59*(3), 281-291.

Liao, B. et Xu, Y. (2011). Exercise improves skeletal muscle insulin resistance without reduced basal mTOR/S6K1 signaling in rats fed a high-fat diet. *Eur J Appl Physiol*, *111*(11), 2743-2752.

Lieber, R. L. et Friden, J. (2000). Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture. *Muscle Nerve*, *23*(11), 1647-1666.

Lieber, R. L. et Ward, S. R. (2011). Skeletal muscle design to meet functional demands. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *366*(1570), 1466-1476.

Lin, J., Wu, H., Tarr, P. T., Zhang, C. Y., Wu, Z., Boss, O., Michael, L. F., Puigserver, P., Isotani, E., Olson, E. N., Lowell, B. B., Bassel-Duby, R. et Spiegelman, B. M. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, *418*(6899), 797-801.

Linari, M., Bottinelli, R., Pellegrino, M. A., Reconditi, M., Reggiani, C. et Lombardi, V. (2004). The mechanism of the force response to stretch in human skinned muscle fibres with different myosin isoforms. *J Physiol*, *554*(Pt 2), 335-352.

Liu, H., Wang, H., Shenvi, S., Hagen, T. M. et Liu, R. M. (2004). Glutathione metabolism during aging and in Alzheimer disease. *Ann N Y Acad Sci*, *1019*, 346-349.

Liu, M., Shen, L., Liu, Y., Woods, S. C., Seeley, R. J., D'Alessio, D. et Tso, P. (2004). Obesity induced by a high-fat diet downregulates apolipoprotein A-IV gene expression in rat hypothalamus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *287*(2), E366-370.

Liu, X., Forbes, E. E., Ryan, N. D., Rofey, D., Hannon, T. S. et Dahl, R. E. (2008). Rapid eye movement sleep in relation to overweight in children and adolescents. *Arch Gen Psychiatry*, *65*(8), 924-932.

Liu, X., Kris-Etherton, P. M., West, S. G., Lamarche, B., Jenkins, D. J., Fleming, J. A., McCrea, C. E., Pu, S., Couture, P., Connelly, P. W. et Jones, P. J. (2016). Effects of canola and high-oleic-acid canola oils on abdominal fat mass in individuals with central obesity. *Obesity (Silver Spring)*, *24*(11), 2261-2268.

Liu, Y., Palanivel, R., Rai, E., Park, M., Gabor, T. V., Scheid, M. P., Xu, A. et Sweeney, G. (2015). Adiponectin stimulates autophagy and reduces oxidative stress to enhance insulin sensitivity during high-fat diet feeding in mice. *Diabetes*, *64*(1), 36-48.

Liu, Y., Randall, W. R. et Schneider, M. F. (2005). Activity-dependent and -independent nuclear fluxes of HDAC4 mediated by different kinases in adult skeletal muscle. *J Cell Biol*, *168*(6), 887-897.

Lo, C. M., Zhang, D. M., Pearson, K., Ma, L., Sun, W., Sakai, R. R., Davidson, W. S., Liu, M., Raybould, H. E., Woods, S. C. et Tso, P. (2007). Interaction of apolipoprotein AIV with cholecystokinin on the control of food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *293*(4), R1490-1494.

Love, M. I., Huber, W. et Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*, *15*(12), 550.

Lowe, D. A., Husom, A. D., Ferrington, D. A. et Thompson, L. V. (2004). Myofibrillar myosin ATPase activity in hindlimb muscles from young and aged rats. *Mech Ageing Dev*, *125*(9), 619-627.

Lu, S. C. (2000). Regulation of glutathione synthesis. *Curr Top Cell Regul*, *36*, 95-116.

Lu, S. C. (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med*, *30*(1-2), 42-59.

Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*, *1830*(5), 3143-3153.

Lupoli, R., Lembo, E., Saldalamacchia, G., Avola, C. K., Angrisani, L. et Capaldo, B. (2017). Bariatric surgery and long-term nutritional issues. *World J Diabetes*, *8*(11), 464-474.

Luppi, M., Cerri, M., Martelli, D., Tupone, D., Del Vecchio, F., Di Cristoforo, A., Perez, E., Zamboni, G. et Amici, R. (2014). Waking and sleeping in the rat made obese through a high-fat hypercaloric diet. *Behav Brain Res*, *258*, 145-152.

Lutter, M. et Nestler, E. J. (2009). Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. *J Nutr*, *139*(3), 629-632.

Lutz, T. A. (2005). Pancreatic amylin as a centrally acting satiating hormone. *Curr Drug Targets*, *6*(2), 181-189.

Lutz, T. A. et Woods, S. C. (2012). Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol, Chapter 5*, Unit5 61.

Macdonald, W. A. et Stephenson, D. G. (2006). Effect of ADP on slow-twitch muscle fibres of the rat: implications for muscle fatigue. *J Physiol*, *573*(Pt 1), 187-198.

Maffeis, C., Schutz, Y., Grezzani, A., Provera, S., Piacentini, G. et Tato, L. (2001). Meal-induced thermogenesis and obesity: is a fat meal a risk factor for fat gain in children? *J Clin Endocrinol Metab*, *86*(1), 214-219.

Maithilikarpagaselvi, N., Sridhar, M. G., Swaminathan, R. P. et Sripradha, R. (2016). Preventive effect of curcumin on inflammation, oxidative stress and insulin resistance in high-fat fed obese rats. *J Complement Integr Med*, *13*(2), 137-143.

Mak, H. Y. (2012). Lipid droplets as fat storage organelles in Caenorhabditis elegans: Thematic Review Series: Lipid Droplet Synthesis and Metabolism: from Yeast to Man. *J Lipid Res*, *53*(1), 28-33.

Marco, A., Kisliouk, T., Tabachnik, T., Meiri, N. et Weller, A. (2014). Overweight and CpG methylation of the Pomc promoter in offspring of high-fat-diet-fed dams are not "reprogrammed" by regular chow diet in rats. *FASEB J*, *28*(9), 4148-4157.

Marco, A., Kisliouk, T., Weller, A. et Meiri, N. (2013). High fat diet induces hypermethylation of the hypothalamic Pomc promoter and obesity in post-weaning rats. *Psychoneuroendocrinology*, *38*(12), 2844-2853.

Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A. et Calhau, C. (2015). High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*, *5*(1), 11-21.

Marseglia, L., D'Angelo, G., Manti, M., Aversa, S., Fiamingo, C., Arrigo, T., Barberi, I., Mami, C. et Gitto, E. (2016). Visfatin: New marker of oxidative stress in preterm newborns. *Int J Immunopathol Pharmacol*, *29*(1), 23-29.

Martinez, J., Johnson, C. D., Sanchez-Paya, J., de Madaria, E., Robles-Diaz, G. et Perez-Mateo, M. (2006). Obesity is a definitive risk factor of severity and mortality in acute pancreatitis: an updated meta-analysis. *Pancreatology*, *6*(3), 206-209.

Martins, A. R., Nachbar, R. T., Gorjao, R., Vinolo, M. A., Festuccia, W. T., Lambertucci, R. H., Cury-Boaventura, M. F., Silveira, L. R., Curi, R. et Hirabara, S. M. (2012). Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*, *11*, 30.

Martire, S. I., Maniam, J., South, T., Holmes, N., Westbrook, R. F. et Morris, M. J. (2014). Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress. *Behav Brain Res*, *265*, 132-141.

Mascarello, F., Toniolo, L., Cancellara, P., Reggiani, C. et Maccatrozzo, L. (2016). Expression and identification of 10 sarcomeric MyHC isoforms in human skeletal muscles of different embryological origin. Diversity and similarity in mammalian species. *Ann Anat*, *207*, 9-20.

Matias, I. et Di Marzo, V. (2007). Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab*, *18*(1), 27-37.

Matsuda, M. et Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes Res Clin Pract*, *7*(5), e330-341.

Matsumura, S., Mizushige, T., Yoneda, T., Iwanaga, T., Tsuzuki, S., Inoue, K. et Fushiki, T. (2007). GPR expression in the rat taste bud relating to fatty acid sensing. *Biomed Res*, *28*(1), 49-55.

Matsuzawa-Nagata, N., Takamura, T., Ando, H., Nakamura, S., Kurita, S., Misu, H., Ota, T., Yokoyama, M., Honda, M., Miyamoto, K. et Kaneko, S. (2008). Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism*, *57*(8), 1071-1077.

McCarthy, J. J., Esser, K. A., Peterson, C. A. et Dupont-Versteegden, E. E. (2009). Evidence of MyomiR network regulation of beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy. *Physiol Genomics*, *39*(3), 219-226.

McClung, C. A. (2007). Circadian rhythms, the mesolimbic dopaminergic circuit, and drug addiction. *ScientificWorldJournal*, *7*, 194-202.

McClung, J. P., Roneker, C. A., Mu, W., Lisk, D. J., Langlais, P., Liu, F. et Lei, X. G. (2004). Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(24), 8852-8857.

McFarlin, B. K., Carpenter, K. C., Henning, A. L. et Venable, A. S. (2017). Consumption of a high-fat breakfast on consecutive days alters preclinical biomarkers for atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr*, *71*(2), 239-244.

McGee, S. L. et Hargreaves, M. (2010). AMPK-mediated regulation of transcription in skeletal muscle. *Clin Sci (Lond)*, *118*(8), 507-518.

McKenna, M. J., Medved, I., Goodman, C. A., Brown, M. J., Bjorksten, A. R., Murphy, K. T., Petersen, A. C., Sostaric, S. et Gong, X. (2006). N-acetylcysteine attenuates the decline in muscle Na+,K+-pump activity and delays fatigue during prolonged exercise in humans. *J Physiol*, *576*(Pt 1), 279-288.

Meister, A., Anderson, M. E. et Hwang, O. (1986). Intracellular cysteine and glutathione delivery systems. *J Am Coll Nutr*, *5*(2), 137-151.

Melhorn, S. J., Krause, E. G., Scott, K. A., Mooney, M. R., Johnson, J. D., Woods, S. C. et Sakai, R. R. (2010). Acute exposure to a high-fat diet alters meal patterns and body composition. *Physiol Behav*, *99*(1), 33-39.

Mendoza, J., Pevet, P. et Challet, E. (2008). High-fat feeding alters the clock synchronization to light. *J Physiol*, *586*(24), 5901-5910.

Meng, R., Zhu, D. L., Bi, Y., Yang, D. H. et Wang, Y. P. (2011). Anti-oxidative effect of apocynin on insulin resistance in high-fat diet mice. *Ann Clin Lab Sci*, *41*(3), 236-243.

Micha, R., Khatibzadeh, S., Shi, P., Fahimi, S., Lim, S., Andrews, K. G., Engell, R. E., Powles, J., Ezzati, M. et Mozaffarian, D. (2014). Global, regional, and national consumption levels of dietary fats and oils in 1990 and 2010: a

systematic analysis including 266 country-specific nutrition surveys. *BMJ*, *348*, g2272.

Mifune, H., Tajiri, Y., Nishi, Y., Hara, K., Iwata, S., Tokubuchi, I., Mitsuzono, R., Yamada, K. et Kojima, M. (2015). Voluntary exercise contributed to an amelioration of abnormal feeding behavior, locomotor activity and ghrelin production concomitantly with a weight reduction in high fat diet-induced obese rats. *Peptides*, *71*, 49-55.

Milagro, F. I., Campion, J. et Martinez, J. A. (2006). Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)*, *14*(7), 1118-1123.

Milanski, M., Degasperi, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D. E., Tsukumo, D. M., Anhe, G., Amaral, M. E., Takahashi, H. K., Curi, R., Oliveira, H. C., Carvalheira, J. B., Bordin, S., Saad, M. J. et Velloso, L. A. (2009). Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci*, *29*(2), 359-370.

Mistlberger, R. E., Lukman, H. et Nadeau, B. G. (1998). Circadian rhythms in the Zucker obese rat: assessment and intervention. *Appetite*, *30*(3), 255-267.

Mizushige, T., Inoue, K. et Fushiki, T. (2007). Why is fat so tasty? Chemical reception of fatty acid on the tongue. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, *53*(1), 1-4.

Moen, R. J., Cornea, S., Oseid, D. E., Binder, B. P., Klein, J. C. et Thomas, D. D. (2014). Redox-sensitive residue in the actin-binding interface of myosin. *Biochem Biophys Res Commun*, *453*(3), 345-349.

Moens, E., Braet, C., Bosmans, G. et Rosseel, Y. (2009). Unfavourable family characteristics and their associations with childhood obesity: a cross-sectional study. *Eur Eat Disord Rev*, *17*(4), 315-323.

Moghadam, A. A., Moran, T. H. et Dailey, M. J. (2017). Alterations in circadian and meal-induced gut peptide levels in lean and obese rats. *Exp Biol Med (Maywood)*, *242*(18), 1786-1794.

Mollica, J. P., Dutka, T. L., Merry, T. L., Lamboley, C. R., McConell, G. K., McKenna, M. J., Murphy, R. M. et Lamb, G. D. (2012). S-glutathionylation of troponin I (fast) increases contractile apparatus Ca2+ sensitivity in fast-twitch muscle fibres of rats and humans. *J Physiol*, *590*(6), 1443-1463.

Monteleone, P., Bencivenga, R., Longobardi, N., Serritella, C. et Maj, M. (2003). Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high-carbohydrate meal in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*, *88*(11), 5510-5514.

Montgomery, M. K., Hallahan, N. L., Brown, S. H., Liu, M., Mitchell, T. W., Cooney, G. J. et Turner, N. (2013). Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. *Diabetologia*, *56*(5), 1129-1139.

Montori-Grau, M., Minor, R., Lerin, C., Allard, J., Garcia-Martinez, C., de Cabo, R. et Gomez-Foix, A. M. (2009). Effects of aging and calorie restriction on rat skeletal muscle glycogen synthase and glycogen phosphorylase. *Exp Gerontol*, *44*(6-7), 426-433.

Moran, T. H. (2000). Cholecystokinin and satiety: current perspectives. *Nutrition*, *16*(10), 858-865.

Moran, T. H. et Kinzig, K. P. (2004). Gastrointestinal satiety signals II. Cholecystokinin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, *286*(2), G183-188.

Morgan, J. E. et Partridge, T. A. (2003). Muscle satellite cells. *Int J Biochem Cell Biol*, *35*(8), 1151-1156.

Morris, G., Anderson, G., Dean, O., Berk, M., Galecki, P., Martin-Subero, M. et Maes, M. (2014). The glutathione system: a new drug target in neuroimmune disorders. *Mol Neurobiol*, *50*(3), 1059-1084.

Mrowczynski, W., Celichowski, J., Raikova, R. et Krutki, P. (2015). Physiological consequences of doublet discharges on motoneuronal firing and motor unit force. *Front Cell Neurosci*, *9*, 81.

Mul, J. D., Begg, D. P., Barrera, J. G., Li, B., Matter, E. K., D'Alessio, D. A., Woods, S. C., Seeley, R. J. et Sandoval, D. A. (2013). High-fat diet changes the temporal profile of GLP-1 receptor-mediated hypophagia in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *305*(1), R68-77.

Mulder, H., Martensson, H., Sundler, F. et Ahren, B. (2000). Differential changes in islet amyloid polypeptide (amylin) and insulin mRNA expression after high-fat diet-induced insulin resistance in C57BL/6J mice. *Metabolism*, *49*(12), 1518-1522.

Mulya, A., Haus, J. M., Solomon, T. P., Kelly, K. R., Malin, S. K., Rocco, M., Barkoukis, H. et Kirwan, J. P. (2017). Exercise training-induced improvement

in skeletal muscle PGC-1alpha-mediated fat metabolism is independent of dietary glycemic index. *Obesity (Silver Spring)*, *25*(4), 721-729.

Murakami, S., Fujino, H., Takeda, I., Momota, R., Kumagishi, K. et Ohtsuka, A. (2010). Comparison of capillary architecture between slow and fast muscles in rats using a confocal laser scanning microscope. *Acta Med Okayama*, *64*(1), 11-18.

Murphy, D. J. (2012). The dynamic roles of intracellular lipid droplets: from archaea to mammals. *Protoplasma*, *249*(3), 541-585.

Murphy, R. M., Xu, H., Latchman, H., Larkins, N. T., Gooley, P. R. et Stapleton, D. I. (2012). Single fiber analyses of glycogen-related proteins reveal their differential association with glycogen in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, *303*(11), C1146-1155.

Must, A., Jacques, P. F., Dallal, G. E., Bajema, C. J. et Dietz, W. H. (1992). Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med*, *327*(19), 1350-1355.

Myers, M. G., Jr., Leibel, R. L., Seeley, R. J. et Schwartz, M. W. (2010). Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab*, *21*(11), 643-651.

Mylonas, C. et Kouretas, D. (1999). Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*, *13*(3), 295-309.

Nagatomo, F., Fujino, H., Kondo, H., Takeda, I., Tsuda, K. et Ishihara, A. (2012). High-fat diet-induced reduction of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha messenger RNA levels and oxidative capacity in the soleus muscle of rats with metabolic syndrome. *Nutr Res*, *32*(2), 144-151.

Nair, S. G., Navarre, B. M., Cifani, C., Pickens, C. L., Bossert, J. M. et Shaham, Y. (2011). Role of dorsal medial prefrontal cortex dopamine D1-family receptors in relapse to high-fat food seeking induced by the anxiogenic drug yohimbine. *Neuropsychopharmacology*, *36*(2), 497-510.

Nassar, A. L., Marot, L. P., Ovidio, P. P., Castro, G. S. et Jordao, A. A., Jr. (2014). Oxidative stress and fatty acid profile in Wistar rats subjected to acute food restriction and refeeding with high-fat diets. *Acta Cir Bras*, *29*(3), 178-185.

Naya, F. J., Mercer, B., Shelton, J., Richardson, J. A., Williams, R. S. et Olson, E. N. (2000). Stimulation of slow skeletal muscle fiber gene expression by calcineurin in vivo. *J Biol Chem*, *275*(7), 4545-4548.

Nayak, B. S., Ramsingh, D., Gooding, S., Legall, G., Bissram, S., Mohammed, A., Raychaudhuri, A., Sahadeo, B., Pandohie, V. et Figaro, K. (2010). Plasma adiponectin levels are related to obesity, inflammation, blood lipids and insulin in type 2 diabetic and non-diabetic Trinidadians. *Prim Care Diabetes*, *4*(3), 187-192.

Naznin, F., Toshinai, K., Waise, T. M., NamKoong, C., Md Moin, A. S., Sakoda, H. et Nakazato, M. (2015). Diet-induced obesity causes peripheral and central ghrelin resistance by promoting inflammation. *J Endocrinol*, *226*(1), 81-92.

Naznin, F., Toshinai, K., Waise, T. M. Z., Okada, T., Sakoda, H. et Nakazato, M. (2018). Restoration of metabolic inflammation-related ghrelin resistance by weight loss. *J Mol Endocrinol*, *60*(2), 109-118.

Neumark-Sztainer, D., Falkner, N., Story, M., Perry, C., Hannan, P. J. et Mulert, S. (2002). Weight-teasing among adolescents: correlations with weight status and disordered eating behaviors. *Int J Obes Relat Metab Disord*, *26*(1), 123-131.

Newton, A. J., Hess, S., Paeger, L., Vogt, M. C., Fleming Lascano, J., Nillni, E. A., Bruning, J. C., Kloppenburg, P. et Xu, A. W. (2013). AgRP innervation onto POMC neurons increases with age and is accelerated with chronic high-fat feeding in male mice. *Endocrinology*, *154*(1), 172-183.

Nielsen, F., Mikkelsen, B. B., Nielsen, J. B., Andersen, H. R. et Grandjean, P. (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*, *43*(7), 1209-1214.

Nielsen, J., Christensen, A. E., Nellemann, B. et Christensen, B. (2017). Lipid droplet size and location in human skeletal muscle fibers are associated with insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *313*(6), E721-E730.

Nielsen, J., Holmberg, H. C., Schroder, H. D., Saltin, B. et Ortenblad, N. (2011). Human skeletal muscle glycogen utilization in exhaustive exercise: role of subcellular localization and fibre type. *J Physiol*, *589*(Pt 11), 2871-2885.

Nielsen, J., Suetta, C., Hvid, L. G., Schroder, H. D., Aagaard, P. et Ortenblad, N. (2010). Subcellular localization-dependent decrements in skeletal muscle

glycogen and mitochondria content following short-term disuse in young and old men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *299*(6), E1053-1060.

Nielsen, J. N., Derave, W., Kristiansen, S., Ralston, E., Ploug, T. et Richter, E. A. (2001). Glycogen synthase localization and activity in rat skeletal muscle is strongly dependent on glycogen content. *J Physiol*, *531*(Pt 3), 757-769.

Nigro, E., Scudiero, O., Monaco, M. L., Palmieri, A., Mazzarella, G., Costagliola, C., Bianco, A. et Daniele, A. (2014). New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *Biomed Res Int*, *2014*, 658913.

Noeman, S. A., Hamooda, H. E. et Baalash, A. A. (2011). Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr*, *3*(1), 17.

Norris, K. M., Okie, W., Kim, W. K., Adhikari, R., Yoo, S., King, S. et Pazdro, R. (2016). A high-fat diet differentially regulates glutathione phenotypes in the obesity-prone mouse strains DBA/2J, C57BL/6J, and AKR/J. *Nutr Res*, *36*(12), 1316-1324.

Nunes, P. M., van de Weijer, T., Veltien, A., Arnts, H., Hesselink, M. K., Glatz, J. F., Schrauwen, P., Tack, C. J. et Heerschap, A. (2012). Increased intramyocellular lipids but unaltered in vivo mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle of adipose triglyceride lipase-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *303*(1), E71-81.

O'Connell, K. A., Dabkowski, E. R., de Fatima Galvao, T., Xu, W., Daneault, C., de Rosiers, C. et Stanley, W. C. (2013). Dietary saturated fat and docosahexaenoic acid differentially effect cardiac mitochondrial phospholipid fatty acyl composition and Ca(2+) uptake, without altering permeability transition or left ventricular function. *Physiol Rep*, *1*(1), e00009.

Oakes, N. D., Cooney, G. J., Camilleri, S., Chisholm, D. J. et Kraegen, E. W. (1997). Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes*, *46*(11), 1768-1774.

Oberbach, A., Bossenz, Y., Lehmann, S., Niebauer, J., Adams, V., Paschke, R., Schon, M. R., Bluher, M. et Punkt, K. (2006). Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *29*(4), 895-900.

Obici, S., Feng, Z., Morgan, K., Stein, D., Karkanias, G. et Rossetti, L. (2002). Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes*, *51*(2), 271-275.

Ohashi, K., Yuasa, D., Shibata, R., Murohara, T. et Ouchi, N. (2015). Adiponectin as a Target in Obesity-related Inflammatory State. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, *15*(2), 145-150.

Okoduwa, S. I., Umar, I. A., Ibrahim, S., Bello, F. et Habila, N. (2015). Age-dependent alteration of antioxidant defense system in hypertensive and type-2 diabetes patients. *J Diabetes Metab Disord*, *14*, 32.

Ookhtens, M. et Kaplowitz, N. (1998). Role of the liver in interorgan homeostasis of glutathione and cyst(e)ine. *Semin Liver Dis*, *18*(4), 313-329.

Ortenblad, N., Nielsen, J., Saltin, B. et Holmberg, H. C. (2011). Role of glycogen availability in sarcoplasmic reticulum Ca2+ kinetics in human skeletal muscle. *J Physiol*, *589*(Pt 3), 711-725.

Ortenblad, N., Westerblad, H. et Nielsen, J. (2013). Muscle glycogen stores and fatigue. *J Physiol*, *591*(18), 4405-4413.

Ortinau, L. C., Hoertel, H. A., Douglas, S. M. et Leidy, H. J. (2014). Effects of high-protein vs. high- fat snacks on appetite control, satiety, and eating initiation in healthy women. *Nutr J*, *13*, 97.

Ottenheijm, C. A., Fong, C., Vangheluwe, P., Wuytack, F., Babu, G. J., Periasamy, M., Witt, C. C., Labeit, S. et Granzier, H. (2008). Sarcoplasmic reticulum calcium uptake and speed of relaxation are depressed in nebulin-free skeletal muscle. *FASEB J*, *22*(8), 2912-2919.

Ouchi, N. et Walsh, K. (2007). Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*, *380*(1-2), 24-30.

Owen, J. B. et Butterfield, D. A. (2010). Measurement of oxidized/reduced glutathione ratio. *Methods Mol Biol*, *648*, 269-277.

Paeger, L., Karakasilioti, I., Altmuller, J., Frommolt, P., Bruning, J. et Kloppenburg, P. (2017). Antagonistic modulation of NPY/AgRP and POMC neurons in the arcuate nucleus by noradrenalin. *Elife*, *6*.

Paeger, L., Pippow, A., Hess, S., Paehler, M., Klein, A. C., Husch, A., Pouzat, C., Bruning, J. C. et Kloppenburg, P. (2017). Energy imbalance alters Ca(2+) handling and excitability of POMC neurons. *Elife*, *6*.

Pai, A. A., Baharian, G., Page Sabourin, A., Brinkworth, J. F., Nedelec, Y., Foley, J. W., Grenier, J. C., Siddle, K. J., Dumaine, A., Yotova, V., Johnson, Z. P., Lanford, R. E., Burge, C. B. et Barreiro, L. B. (2016). Widespread Shortening of 3' Untranslated Regions and Increased Exon Inclusion Are Evolutionarily Conserved Features of Innate Immune Responses to Infection. *PLoS Genet*, *12*(9), e1006338.

Pallardo, F. V., Markovic, J., Garcia, J. L. et Vina, J. (2009). Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol Aspects Med*, *30*(1-2), 77-85.

Park, H. K. et Ahima, R. S. (2013). Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab J*, *37*(6), 404-414.

Parkes, S. L. et Balleine, B. W. (2013). Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *J Neurosci*, *33*(20), 8753-8763.

Pastore, A., Ciampalini, P., Tozzi, G., Pecorelli, L., Passarelli, C., Bertini, E. et Piemonte, F. (2012). All glutathione forms are depleted in blood of obese and type 1 diabetic children. *Pediatr Diabetes*, *13*(3), 272-277.

Pataky, M. W., Wang, H., Yu, C. S., Arias, E. B., Ploutz-Snyder, R. J., Zheng, X. et Cartee, G. D. (2017). High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance in Single Skeletal Muscle Fibers is Fiber Type Selective. *Sci Rep*, *7*(1), 13642.

Paulino, G., Darcel, N., Tome, D. et Raybould, H. (2008). Adaptation of lipid-induced satiation is not dependent on caloric density in rats. *Physiol Behav*, *93*(4-5), 930-936.

Peckham, S. C., Entenman, C. et Carroll, H. W. (1962). The influence of a hypercalric diet on gross body and adipose tissue composition in the rat. *J Nutr*, *77*, 187-197.

Pena, L. R., Hill, D. B. et McClain, C. J. (1999). Treatment with glutathione precursor decreases cytokine activity. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, *23*(1), 1-6.

Pendergast, J. S., Branecky, K. L., Yang, W., Ellacott, K. L., Niswender, K. D. et Yamazaki, S. (2013). High-fat diet acutely affects circadian organisation and eating behavior. *Eur J Neurosci*, *37*(8), 1350-1356.

Perron, I. J., Pack, A. I. et Veasey, S. (2015). Diet/Energy Balance Affect Sleep and Wakefulness Independent of Body Weight. *Sleep*, *38*(12), 1893-1903.

Pette, D. et Staron, R. S. (2000). Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech*, *50*(6), 500-509.

Pham-Huy, L. A., He, H. et Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, *4*(2), 89-96.

Phillips, C. M. (2013). Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord*, *14*(3), 219-227.

Phillips, C. M., Kesse-Guyot, E., McManus, R., Hercberg, S., Lairon, D., Planells, R. et Roche, H. M. (2012). High dietary saturated fat intake accentuates obesity risk associated with the fat mass and obesity-associated gene in adults. *J Nutr*, *142*(5), 824-831.

Pichon, L., Huneau, J. F., Fromentin, G. et Tome, D. (2006). A high-protein, high-fat, carbohydrate-free diet reduces energy intake, hepatic lipogenesis, and adiposity in rats. *J Nutr*, *136*(5), 1256-1260.

Piers, L. S., Walker, K. Z., Stoney, R. M., Soares, M. J. et O'Dea, K. (2003). Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4-week diet affects body weight and composition of overweight and obese men. *Br J Nutr*, *90*(3), 717-727.

Pihl, E., Zilmer, K., Kullisaar, T., Kairane, C., Magi, A. et Zilmer, M. (2006). Atherogenic inflammatory and oxidative stress markers in relation to overweight values in male former athletes. *Int J Obes (Lond)*, *30*(1), 141-146.

Pillar, G. et Shehadeh, N. (2008). Abdominal fat and sleep apnea: the chicken or the egg? *Diabetes Care*, *31 Suppl 2*, S303-309.

Pimenta, M., Bringhenti, I., Souza-Mello, V., Dos Santos Mendes, I. K., Aguila, M. B. et Mandarim-de-Lacerda, C. A. (2015). High-intensity interval training beneficial effects on body mass, blood pressure, and oxidative stress in diet-induced obesity in ovariectomized mice. *Life Sci*, *139*, 75-82.

Pinho, R. A., Sepa-Kishi, D. M., Bikopoulos, G., Wu, M. V., Uthayakumar, A., Mohasses, A., Hughes, M. C., Perry, C. G. R. et Ceddia, R. B. (2017). High-fat diet induces skeletal muscle oxidative stress in a fiber type-dependent manner in rats. *Free Radic Biol Med*, *110*, 381-389.

Pizzorno, J. (2014). Glutathione! *Integr Med (Encinitas)*, *13*(1), 8-12.

Plum, L., Schubert, M. et Bruning, J. C. (2005). The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab*, *16*(2), 59-65.

Powell, P. L., Roy, R. R., Kanim, P., Bello, M. A. et Edgerton, V. R. (1984). Predictability of skeletal muscle tension from architectural determinations in guinea pig hindlimbs. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, *57*(6), 1715-1721.

Primeaux, S. D., Braymer, H. D. et Bray, G. A. (2013). High fat diet differentially regulates the expression of olfactory receptors in the duodenum of obesity-prone and obesity-resistant rats. *Dig Dis Sci*, *58*(1), 72-76.

Puhl, R. et Brownell, K. D. (2001). Bias, discrimination, and obesity. *Obes Res*, *9*(12), 788-805.

Qi, X., Reed, J. T., Wang, G., Han, S., Englander, E. W. et Greeley, G. H., Jr. (2008). Ghrelin secretion is not reduced by increased fat mass during diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *295*(2), R429-435.

Raatz, S. K., Conrad, Z., Johnson, L. K., Picklo, M. J. et Jahns, L. (2017). Relationship of the Reported Intakes of Fat and Fatty Acids to Body Weight in US Adults. *Nutrients*, *9*(5).

Rachek, L. I. (2014). Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. *Prog Mol Biol Transl Sci*, *121*, 267-292.

Rada, P., Bocarsly, M. E., Barson, J. R., Hoebel, B. G. et Leibowitz, S. F. (2010). Reduced accumbens dopamine in Sprague-Dawley rats prone to overeating a fat-rich diet. *Physiol Behav*, *101*(3), 394-400.

Rahemi, H., Nigam, N. et Wakeling, J. M. (2015). The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. *J R Soc Interface*, *12*(109), 20150365.

Ramadan, W., Dewasmes, G., Petitjean, M., Wiernsperger, N., Delanaud, S., Geloen, A. et Libert, J. P. (2007). Sleep apnea is induced by a high-fat diet and

reversed and prevented by metformin in non-obese rats. *Obesity (Silver Spring)*, *15*(6), 1409-1418.

Ramirez, I. et Friedman, M. I. (1990). Dietary hyperphagia in rats: role of fat, carbohydrate, and energy content. *Physiol Behav*, *47*(6), 1157-1163.

Rao, D. P., Kropac, E., Do, M. T., Roberts, K. C. et Jayaraman, G. C. (2016). Childhood overweight and obesity trends in Canada. *Health Promot Chronic Dis Prev Can*, *36*(9), 194-198.

Rao, M. N., Blackwell, T., Redline, S., Stefanick, M. L., Ancoli-Israel, S. et Stone, K. L. (2009). Association between sleep architecture and measures of body composition. *Sleep*, *32*(4), 483-490.

Rassier, D. E., MacIntosh, B. R. et Herzog, W. (1999). Length dependence of active force production in skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, *86*(5), 1445-1457.

Ravnskjaer, K., Frigerio, F., Boergesen, M., Nielsen, T., Maechler, P. et Mandrup, S. (2010). PPARdelta is a fatty acid sensor that enhances mitochondrial oxidation in insulin-secreting cells and protects against fatty acid-induced dysfunction. *J Lipid Res*, *51*(6), 1370-1379.

Reed, M. J., Meszaros, K., Entes, L. J., Claypool, M. D., Pinkett, J. G., Gadbois, T. M. et Reaven, G. M. (2000). A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*, *49*(11), 1390-1394.

Reidelberger, R. D., Kelsey, L. et Heimann, D. (2002). Effects of amylin-related peptides on food intake, meal patterns, and gastric emptying in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *282*(5), R1395-1404.

Reilly, J. J., Methven, E., McDowell, Z. C., Hacking, B., Alexander, D., Stewart, L. et Kelnar, C. J. (2003). Health consequences of obesity. *Arch Dis Child*, *88*(9), 748-752.

Reinehr, T., Enriori, P. J., Harz, K., Cowley, M. A. et Roth, C. L. (2006). Pancreatic polypeptide in obese children before and after weight loss. *Int J Obes (Lond)*, *30*(10), 1476-1481.

Rezende Yanagihara, G., Carminati Shimano, R., Atsuko Tida, J., Suzuki Yamanaka, J., Yasuyo Fukada, S., Mardegan Issa, J. P., Shimano, A. C. et Tavares, J. M. (2017). Influence of High-Fat Diet on Bone Tissue: An Experimental Study in Growing Rats. *J Nutr Health Aging*, *21*(10), 1337-1343.

Ribas, V., Garcia-Ruiz, C. et Fernandez-Checa, J. C. (2014). Glutathione and mitochondria. *Front Pharmacol*, *5*, 151.

Richards, P., Pais, R., Habib, A. M., Brighton, C. A., Yeo, G. S., Reimann, F. et Gribble, F. M. (2016). High fat diet impairs the function of glucagon-like peptide-1 producing L-cells. *Peptides*, *77*, 21-27.

Rising, R., Harper, I. T., Fontvielle, A. M., Ferraro, R. T., Spraul, M. et Ravussin, E. (1994). Determinants of total daily energy expenditure: variability in physical activity. *Am J Clin Nutr*, *59*(4), 800-804.

Ristoff, E. et Larsson, A. (2007). Inborn errors in the metabolism of glutathione. *Orphanet J Rare Dis*, *2*, 16.

Roberts, C. K., Berger, J. J. et Barnard, R. J. (2002). Long-term effects of diet on leptin, energy intake, and activity in a model of diet-induced obesity. *J Appl Physiol (1985)*, *93*(3), 887-893.

Roberts, K. C., Shields, M., de Groh, M., Aziz, A. et Gilbert, J. A. (2012). Overweight and obesity in children and adolescents: results from the 2009 to 2011 Canadian Health Measures Survey. *Health Rep*, *23*(3), 37-41.

Robertson, M. D., Jackson, K. G., Fielding, B. A., Williams, C. M. et Frayn, K. N. (2002). Acute effects of meal fatty acid composition on insulin sensitivity in healthy post-menopausal women. *Br J Nutr*, *88*(6), 635-640.

Rodriguez, A. M., Quevedo-Coli, S., Roca, P. et Palou, A. (2001). Sex-dependent dietary obesity, induction of UCPs, and leptin expression in rat adipose tissues. *Obes Res*, *9*(9), 579-588.

Rolls, B. J., Castellanos, V. H., Halford, J. C., Kilara, A., Panyam, D., Pelkman, C. L., Smith, G. P. et Thorwart, M. L. (1998). Volume of food consumed affects satiety in men. *Am J Clin Nutr*, *67*(6), 1170-1177.

Romon, M., Lebel, P., Fruchart, J. C. et Dallongeville, J. (2003). Postprandial leptin response to carbohydrate and fat meals in obese women. *J Am Coll Nutr*, *22*(3), 247-251.

Romon, M., Lebel, P., Velly, C., Marecaux, N., Fruchart, J. C. et Dallongeville, J. (1999). Leptin response to carbohydrate or fat meal and association with subsequent satiety and energy intake. *Am J Physiol*, *277*(5 Pt 1), E855-861.

Roorda, B. D., Hesselink, M. K., Schaart, G., Moonen-Kornips, E., Martinez-Martinez, P., Losen, M., De Baets, M. H., Mensink, R. P. et Schrauwen, P. (2005). DGAT1 overexpression in muscle by in vivo DNA electroporation increases intramyocellular lipid content. *J Lipid Res*, *46*(2), 230-236.

Roth, J. D., Hughes, H., Kendall, E., Baron, A. D. et Anderson, C. M. (2006). Antiobesity effects of the beta-cell hormone amylin in diet-induced obese rats: effects on food intake, body weight, composition, energy expenditure, and gene expression. *Endocrinology*, *147*(12), 5855-5864.

Roth, J. D., Roland, B. L., Cole, R. L., Trevaskis, J. L., Weyer, C., Koda, J. E., Anderson, C. M., Parkes, D. G. et Baron, A. D. (2008). Leptin responsiveness restored by amylin agonism in diet-induced obesity: evidence from nonclinical and clinical studies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(20), 7257-7262.

Ruipan, Z., Xiangzhi, M., Li, L., Ying, Z., Mingliang, Q., Peng, J., Jingwei, L., Zijun, Z. et Yan, G. (2014). Differential expression and localization of neuropeptide Y peptide in pancreatic islet of diabetic and high fat fed rats. *Peptides*, *54*, 33-38.

Rybka, J., Kupczyk, D., Kedziora-Kornatowska, K., Pawluk, H., Czuczejko, J., Szewczyk-Golec, K., Kozakiewicz, M., Antonioli, M., Carvalho, L. A. et Kedziora, J. (2011). Age-related changes in an antioxidant defense system in elderly patients with essential hypertension compared with healthy controls. *Redox Rep*, *16*(2), 71-77.

Sakellariou, G. K., Vasilaki, A., Palomero, J., Kayani, A., Zibrik, L., McArdle, A. et Jackson, M. J. (2013). Studies of mitochondrial and nonmitochondrial sources implicate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase(s) in the increased skeletal muscle superoxide generation that occurs during contractile activity. *Antioxid Redox Signal*, *18*(6), 603-621.

Samuel, V. T. et Shulman, G. I. (2010). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, *148*(5), 852-871.

Sanchez, A. M., Candau, R. B., Csibi, A., Pagano, A. F., Raibon, A. et Bernardi, H. (2012). The role of AMP-activated protein kinase in the coordination of skeletal muscle turnover and energy homeostasis. *Am J Physiol Cell Physiol*, *303*(5), C475-485.

Sastre, J., Pallardo, F. V., Llopis, J., Furukawa, T., Vina, J. R. et Vina, J. (1989). Glutathione depletion by hyperphagia-induced obesity. *Life Sci*, *45*(2), 183-187.

Sawyer, M. G., Harchak, T., Wake, M. et Lynch, J. (2011). Four-year prospective study of BMI and mental health problems in young children. *Pediatrics*, *128*(4), 677-684.

Schaffhauser, A. O., Madiehe, A. M., Braymer, H. D., Bray, G. A. et York, D. A. (2002). Effects of a high-fat diet and strain on hypothalamic gene expression in rats. *Obes Res*, *10*(11), 1188-1196.

Schemmel, R., Mickelsen, O. et Gill, J. L. (1970). Dietary obesity in rats: Body weight and body fat accretion in seven strains of rats. *J Nutr*, *100*(9), 1041-1048.

Schiaffino, S., Hanzlikova, V. et Pierobon, S. (1970). Relations between structure and function in rat skeletal muscle fibers. *J Cell Biol*, *47*(1), 107-119.

Schieber, M. et Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol*, *24*(10), R453-462.

Schmiedt, C. W., Gogal, R. M., Harvey, S. B., Torres, A. K., Jarrett, C. L., Uhl, E. W. et Hurley, D. J. (2011). Biometric evidence of diet-induced obesity in Lew/Crl rats. *Comp Med*, *61*(2), 131-137.

Schmitz-Peiffer, C., Craig, D. L. et Biden, T. J. (1999). Ceramide generation is sufficient to account for the inhibition of the insulin-stimulated PKB pathway in C2C12 skeletal muscle cells pretreated with palmitate. *J Biol Chem*, *274*(34), 24202-24210.

Schmitz, G. et Ecker, J. (2008). The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res*, *47*(2), 147-155.

Schrauwen-Hinderling, V. B., Kooi, M. E., Hesselink, M. K., Moonen-Kornips, E., Schaart, G., Mustard, K. J., Hardie, D. G., Saris, W. H., Nicolay, K. et Schrauwen, P. (2005). Intramyocellular lipid content and molecular adaptations in response to a 1-week high-fat diet. *Obes Res*, *13*(12), 2088-2094.

Schroeder, M., Zagoory-Sharon, O., Shbiro, L., Marco, A., Hyun, J., Moran, T. H., Bi, S. et Weller, A. (2009). Development of obesity in the Otsuka Long-Evans

Tokushima Fatty rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *297*(6), R1749-1760.

Scott, T. L., Rangaswamy, S., Wicker, C. A. et Izumi, T. (2014). Repair of oxidative DNA damage and cancer: recent progress in DNA base excision repair. *Antioxid Redox Signal*, *20*(4), 708-726.

Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I. et Milner, J. A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem*, *18*(9), 567-579.

Seino, Y., Fukushima, M. et Yabe, D. (2010). GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. *J Diabetes Investig*, *1*(1-2), 8-23.

Sejersted, O. M. et Sjogaard, G. (2000). Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise. *Physiol Rev*, *80*(4), 1411-1481.

Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*, *4*(6), 624-630.

Seretis, K., Goulis, D. G., Koliakos, G. et Demiri, E. (2015). Short- and Long-Term Effects of Abdominal Lipectomy on Weight and Fat Mass in Females: a Systematic Review. *Obes Surg*, *25*(10), 1950-1958.

Serisier, S., Pizzagalli, A., Leclerc, L., Feugier, A., Nguyen, P., Biourge, V. et German, A. J. (2014). Increasing volume of food by incorporating air reduces energy intake. *J Nutr Sci*, *3*, e59.

Shah, M. et Vella, A. (2014). Effects of GLP-1 on appetite and weight. *Rev Endocr Metab Disord*, *15*(3), 181-187.

Sharma, S., Fernandes, M. F. et Fulton, S. (2013). Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. *Int J Obes (Lond)*, *37*(9), 1183-1191.

Shea, S., Aymong, E., Zybert, P., Shamoon, H., Tracy, R. P., Deckelbaum, R. J. et Basch, C. E. (2003). Obesity, fasting plasma insulin, and C-reactive protein levels in healthy children. *Obes Res*, *11*(1), 95-103.

Shen, J., Sakaida, I., Uchida, K., Terai, S. et Okita, K. (2005). Leptin enhances TNF-alpha production via p38 and JNK MAPK in LPS-stimulated Kupffer cells. *Life Sci*, *77*(13), 1502-1515.

Shen, W. et McIntosh, M. K. (2016). Nutrient Regulation: Conjugated Linoleic Acid's Inflammatory and Browning Properties in Adipose Tissue. *Annu Rev Nutr*, *36*, 183-210.

Sherman, H., Genzer, Y., Cohen, R., Chapnik, N., Madar, Z. et Froy, O. (2012). Timed high-fat diet resets circadian metabolism and prevents obesity. *FASEB J*, *26*(8), 3493-3502.

Shiiya, T., Nakazato, M., Mizuta, M., Date, Y., Mondal, M. S., Tanaka, M., Nozoe, S., Hosoda, H., Kangawa, K. et Matsukura, S. (2002). Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, *87*(1), 240-244.

Shimizu, H., Kiyohara, Y., Kato, I., Kitazono, T., Tanizaki, Y., Kubo, M., Ueno, H., Ibayashi, S., Fujishima, M. et Iida, M. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, *35*(9), 2072-2077.

Shoelson, S. E., Herrero, L. et Naaz, A. (2007). Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*, *132*(6), 2169-2180.

Sian, J., Dexter, D. T., Lees, A. J., Daniel, S., Agid, Y., Javoy-Agid, F., Jenner, P. et Marsden, C. D. (1994). Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann Neurol*, *36*(3), 348-355.

Sieck, G. C. (1994). Physiological effects of diaphragm muscle denervation and disuse. *Clin Chest Med*, *15*(4), 641-659.

Silberbauer, C. J., Jacober, B. et Langhans, W. (1998). Dietary fat level and short-term effects of a high-fat meal on food intake and metabolism. *Ann Nutr Metab*, *42*(2), 75-89.

Silva, A. P., Guimaraes, D. E., Mizurini, D. M., Maia, I. C., Ortiz-Costa, S., Sardinha, F. L. et do Carmo, M. G. (2006). Dietary fatty acids early in life affect lipid metabolism and adiposity in young rats. *Lipids*, *41*(6), 535-541.

Silventoinen, K., Rokholm, B., Kaprio, J. et Sorensen, T. I. (2010). The genetic and environmental influences on childhood obesity: a systematic review of twin and adoption studies. *Int J Obes (Lond)*, *34*(1), 29-40.

Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood), 233*(6), 674-688.

Sindhu, S., Thomas, R., Shihab, P., Sriraman, D., Behbehani, K. et Ahmad, R. (2015). Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. *PLoS One, 10*(7), e0133494.

Singhal, A., Kennedy, K., Lanigan, J., Fewtrell, M., Cole, T. J., Stephenson, T., Elias-Jones, A., Weaver, L. T., Ibhanesebhor, S., MacDonald, P. D., Bindels, J. et Lucas, A. (2010). Nutrition in infancy and long-term risk of obesity: evidence from 2 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr, 92*(5), 1133-1144.

Slupecka, M., Romanowicz, K. et Wolinski, J. (2016). Maternal High-Fat Diet during Pregnancy and Lactation Influences Obestatin and Ghrelin Concentrations in Milk and Plasma of Wistar Rat Dams and Their Offspring. *Int J Endocrinol, 2016*, 5739763.

So, M., Gaidhu, M. P., Maghdoori, B. et Ceddia, R. B. (2011). Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rats. *Lipids Health Dis, 10*, 99.

Sola-Penna, M., Da Silva, D., Coelho, W. S., Marinho-Carvalho, M. M. et Zancan, P. (2010). Regulation of mammalian muscle type 6-phosphofructo-1-kinase and its implication for the control of the metabolism. *IUBMB Life, 62*(11), 791-796.

Song, D. H., Getty-Kaushik, L., Tseng, E., Simon, J., Corkey, B. E. et Wolfe, M. M. (2007). Glucose-dependent insulinotropic polypeptide enhances adipocyte development and glucose uptake in part through Akt activation. *Gastroenterology, 133*(6), 1796-1805.

Song, S., Andrikopoulos, S., Filippis, C., Thorburn, A. W., Khan, D. et Proietto, J. (2001). Mechanism of fat-induced hepatic gluconeogenesis: effect of metformin. *Am J Physiol Endocrinol Metab, 281*(2), E275-282.

Sothern, M. S. (2001). Exercise as a modality in the treatment of childhood obesity. *Pediatr Clin North Am, 48*(4), 995-1015.

Souza, G. F., Solon, C., Nascimento, L. F., De-Lima-Junior, J. C., Nogueira, G., Moura, R., Rocha, G. Z., Fioravante, M., Bobbo, V., Morari, J., Razolli, D., Araujo, E. P. et Velloso, L. A. (2016). Defective regulation of POMC

precedes hypothalamic inflammation in diet-induced obesity. *Sci Rep*, *6*, 29290.

Sparks, L. M., Xie, H., Koza, R. A., Mynatt, R., Hulver, M. W., Bray, G. A. et Smith, S. R. (2005). A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes*, *54*(7), 1926-1933.

Speakman, J., Hambly, C., Mitchell, S. et Krol, E. (2007). Animal models of obesity. *Obes Rev*, *8 Suppl 1*, 55-61.

Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L. et Ramarao, P. (2005). Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*, *52*(4), 313-320.

Stackhouse, S. K., Reisman, D. S. et Binder-Macleod, S. A. (2001). Challenging the role of pH in skeletal muscle fatigue. *Phys Ther*, *81*(12), 1897-1903.

Stanley, S., Wynne, K., McGowan, B. et Bloom, S. (2005). Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev*, *85*(4), 1131-1158.

Steinbacher, P. et Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, *5*(2), 356-377.

Stevanovic, D. M., Grefhorst, A., Themmen, A. P., Popovic, V., Holstege, J., Haasdijk, E., Trajkovic, V., van der Lely, A. J. et Delhanty, P. J. (2014). Unacylated ghrelin suppresses ghrelin-induced neuronal activity in the hypothalamus and brainstem of male rats [corrected]. *PLoS One*, *9*(5), e98180.

Stevenson, J. L., Clevenger, H. C. et Cooper, J. A. (2015). Hunger and satiety responses to high-fat meals of varying fatty acid composition in women with obesity. *Obesity (Silver Spring)*, *23*(10), 1980-1986.

Stewart, L., Reilly, J. J. et Hughes, A. R. (2009). Evidence-based behavioral treatment of obesity in children and adolescents. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, *18*(1), 189-198.

Stice, E., Burger, K. S. et Yokum, S. (2013). Relative ability of fat and sugar tastes to activate reward, gustatory, and somatosensory regions. *Am J Clin Nutr*, *98*(6), 1377-1384.

Stice, E. et Yokum, S. (2016). Neural vulnerability factors that increase risk for future weight gain. *Psychol Bull*, *142*(5), 447-471.

Stofkova, A., Skurlova, M., Kiss, A., Zelezna, B., Zorad, S. et Jurcovicova, J. (2009). Activation of hypothalamic NPY, AgRP, MC4R, AND IL-6 mRNA levels in young Lewis rats with early-life diet-induced obesity. *Endocr Regul*, *43*(3), 99-106.

Strik, C. M., Lithander, F. E., McGill, A. T., MacGibbon, A. K., McArdle, B. H. et Poppitt, S. D. (2010). No evidence of differential effects of SFA, MUFA or PUFA on post-ingestive satiety and energy intake: a randomised trial of fatty acid saturation. *Nutr J*, *9*, 24.

Suk, M. et Shin, Y. (2015). Effect of high-intensity exercise and high-fat diet on lipid metabolism in the liver of rats. *J Exerc Nutrition Biochem*, *19*(4), 289-295.

Summers, L. K., Fielding, B. A., Bradshaw, H. A., Ilic, V., Beysen, C., Clark, M. L., Moore, N. R. et Frayn, K. N. (2002). Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity. *Diabetologia*, *45*(3), 369-377.

Sun, L., Wang, Y., Song, Y., Cheng, X. R., Xia, S., Rahman, M. R., Shi, Y. et Le, G. (2015). Resveratrol restores the circadian rhythmic disorder of lipid metabolism induced by high-fat diet in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, *458*(1), 86-91.

Suzuki, K., Jayasena, C. N. et Bloom, S. R. (2012). Obesity and appetite control. *Exp Diabetes Res*, *2012*, 824305.

Synowski, S. J., Smart, A. B. et Warwick, Z. S. (2005). Meal size of high-fat food is reliably greater than high-carbohydrate food across externally-evoked single-meal tests and long-term spontaneous feeding in rat. *Appetite*, *45*(2), 191-194.

Takeuchi, H., Noguchi, O., Sekine, S., Kobayashi, A. et Aoyama, T. (2006). Lower weight gain and higher expression and blood levels of adiponectin in rats fed medium-chain TAG compared with long-chain TAG. *Lipids*, *41*(2), 207-212.

Tam, C. S., Viardot, A., Clement, K., Tordjman, J., Tonks, K., Greenfield, J. R., Campbell, L. V., Samocha-Bonet, D. et Heilbronn, L. K. (2010). Short-term overfeeding may induce peripheral insulin resistance without altering subcutaneous adipose tissue macrophages in humans. *Diabetes*, *59*(9), 2164-2170.

Tanaka, T., Yoshida, N., Kishimoto, T. et Akira, S. (1997). Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. *EMBO J*, *16*(24), 7432-7443.

Tanji, K. et Bonilla, E. (2008). Light microscopic methods to visualize mitochondria on tissue sections. *Methods*, *46*(4), 274-280.

Tanner, C. J., Barakat, H. A., Dohm, G. L., Pories, W. J., MacDonald, K. G., Cunningham, P. R., Swanson, M. S. et Houmard, J. A. (2002). Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *282*(6), E1191-1196.

Taouis, M., Dagou, C., Ster, C., Durand, G., Pinault, M. et Delarue, J. (2002). N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *282*(3), E664-671.

Taylor, J. L., Amann, M., Duchateau, J., Meeusen, R. et Rice, C. L. (2016). Neural Contributions to Muscle Fatigue: From the Brain to the Muscle and Back Again. *Med Sci Sports Exerc*, *48*(11), 2294-2306.

Te Morenga, L. et Montez, J. M. (2017). Health effects of saturated and trans-fatty acid intake in children and adolescents: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, *12*(11), e0186672.

ter Haar, M. B. (1972). Circadian and estrual rhythms in food intake in the rat. *Horm Behav*, *3*(3), 213-219.

Than, A., Zhang, X., Leow, M. K., Poh, C. L., Chong, S. K. et Chen, P. (2014). Apelin attenuates oxidative stress in human adipocytes. *J Biol Chem*, *289*(6), 3763-3774.

The, N. S., Suchindran, C., North, K. E., Popkin, B. M. et Gordon-Larsen, P. (2010). Association of adolescent obesity with risk of severe obesity in adulthood. *JAMA*, *304*(18), 2042-2047.

Thomas, M. M., Trajcevski, K. E., Coleman, S. K., Jiang, M., Di Michele, J., O'Neill, H. M., Lally, J. S., Steinberg, G. R. et Hawke, T. J. (2014). Early oxidative shifts in mouse skeletal muscle morphology with high-fat diet consumption do not lead to functional improvements. *Physiol Rep*, *2*(9).

Tornatore, L., Thotakura, A. K., Bennett, J., Moretti, M. et Franzoso, G. (2012). The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell Biol*, *22*(11), 557-566.

Torres, S. J. et Nowson, C. A. (2007). Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition*, *23*(11-12), 887-894.

Tran, B. X., Nair, A. V., Kuhle, S., Ohinmaa, A. et Veugelers, P. J. (2013). Cost analyses of obesity in Canada: scope, quality, and implications. *Cost Eff Resour Alloc*, *11*(1), 3.

Treesukosol, Y. et Moran, T. H. (2014). Analyses of meal patterns across dietary shifts. *Appetite*, *75*, 21-29.

Tremblay, M. S., Leblanc, A. G., Janssen, I., Kho, M. E., Hicks, A., Murumets, K., Colley, R. C. et Duggan, M. (2011). Canadian sedentary behaviour guidelines for children and youth. *Appl Physiol Nutr Metab*, *36*(1), 59-64; 65-71.

Treuth, M. S., Sunehag, A. L., Trautwein, L. M., Bier, D. M., Haymond, M. W. et Butte, N. F. (2003). Metabolic adaptation to high-fat and high-carbohydrate diets in children and adolescents. *Am J Clin Nutr*, *77*(2), 479-489.

Trevaskis, J. L., Parkes, D. G. et Roth, J. D. (2010). Insights into amylin-leptin synergy. *Trends Endocrinol Metab*, *21*(8), 473-479.

Trevaskis, J. L., Wittmer, C., Athanacio, J., Griffin, P. S., Parkes, D. G. et Roth, J. D. (2016). Amylin/leptin synergy is absent in extreme obesity and not restored by calorie restriction-induced weight loss in rats. *Obes Sci Pract*, *2*(4), 385-391.

Trovato, L., Gallo, D., Settanni, F., Gesmundo, I., Ghigo, E. et Granata, R. (2014). Obestatin: is it really doing something? *Front Horm Res*, *42*, 175-185.

Tsai, C. J., Leitzmann, M. F., Willett, W. C. et Giovannucci, E. L. (2004). Prospective study of abdominal adiposity and gallstone disease in US men. *Am J Clin Nutr*, *80*(1), 38-44.

Tschop, M., Smiley, D. L. et Heiman, M. L. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, *407*(6806), 908-913.

Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., Devanarayan, V., Ravussin, E. et Heiman, M. L. (2001). Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, *50*(4), 707-709.

Tukker, A., Visscher, T. L. et Picavet, H. S. (2009). Overweight and health problems of the lower extremities: osteoarthritis, pain and disability. *Public Health Nutr, 12*(3), 359-368.

Tuomisto, T., Tuomisto, M. T., Hetherington, M. et Lappalainen, R. (1998). Reasons for initiation and cessation of eating in obese men and women and the affective consequences of eating in everyday situations. *Appetite, 30*(2), 211-222.

Turcot, V., Rouleau, T., Tsopmo, A., Germain, N., Potvin, L., Nuyt, A. M. et Lavoie, J. C. (2009). Long-term impact of an antioxidant-deficient neonatal diet on lipid and glucose metabolism. *Free Radic Biol Med, 47*(3), 275-282.

Turton, M. D., O'Shea, D., Gunn, I., Beak, S. A., Edwards, C. M., Meeran, K., Choi, S. J., Taylor, G. M., Heath, M. M., Lambert, P. D., Wilding, J. P., Smith, D. M., Ghatei, M. A., Herbert, J. et Bloom, S. R. (1996). A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature, 379*(6560), 69-72.

Tzanavari, T., Giannogonas, P. et Karalis, K. P. (2010). TNF-alpha and obesity. *Curr Dir Autoimmun, 11*, 145-156.

Urata, Y., Yamamoto, H., Goto, S., Tsushima, H., Akazawa, S., Yamashita, S., Nagataki, S. et Kondo, T. (1996). Long exposure to high glucose concentration impairs the responsive expression of gamma-glutamylcysteine synthetase by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in mouse endothelial cells. *J Biol Chem, 271*(25), 15146-15152.

Ussher, J. R., Koves, T. R., Cadete, V. J., Zhang, L., Jaswal, J. S., Swyrd, S. J., Lopaschuk, D. G., Proctor, S. D., Keung, W., Muoio, D. M. et Lopaschuk, G. D. (2010). Inhibition of de novo ceramide synthesis reverses diet-induced insulin resistance and enhances whole-body oxygen consumption. *Diabetes, 59*(10), 2453-2464.

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P. et Mahajan, R. T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol, 7*(1), 65-74.

Utzschneider, K. M., Carr, D. B., Tong, J., Wallace, T. M., Hull, R. L., Zraika, S., Xiao, Q., Mistry, J. S., Retzlaff, B. M., Knopp, R. H. et Kahn, S. E. (2005). Resistin is not associated with insulin sensitivity or the metabolic syndrome in humans. *Diabetologia, 48*(11), 2330-2333.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. et Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, *39*(1), 44-84.

van den Broek, N. M., Ciapaite, J., De Feyter, H. M., Houten, S. M., Wanders, R. J., Jeneson, J. A., Nicolay, K. et Prompers, J. J. (2010). Increased mitochondrial content rescues in vivo muscle oxidative capacity in long-term high-fat-diet-fed rats. *FASEB J*, *24*(5), 1354-1364.

Velloso, L. A., Araujo, E. P. et de Souza, C. T. (2008). Diet-induced inflammation of the hypothalamus in obesity. *Neuroimmunomodulation*, *15*(3), 189-193.

Venkataraman, K., Khurana, S. et Tai, T. C. (2013). Oxidative stress in aging--matters of the heart and mind. *Int J Mol Sci*, *14*(9), 17897-17925.

Vgontzas, A. N., Bixler, E. O., Chrousos, G. P. et Pejovic, S. (2008). Obesity and sleep disturbances: meaningful sub-typing of obesity. *Arch Physiol Biochem*, *114*(4), 224-236.

Viner, R. M., Hsia, Y., Tomsic, T. et Wong, I. C. (2010). Efficacy and safety of anti-obesity drugs in children and adolescents: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*, *11*(8), 593-602.

von Frankenberg, A. D., Marina, A., Song, X., Callahan, H. S., Kratz, M. et Utzschneider, K. M. (2017). A high-fat, high-saturated fat diet decreases insulin sensitivity without changing intra-abdominal fat in weight-stable overweight and obese adults. *Eur J Nutr*, *56*(1), 431-443.

Votruba, S. B. et Jensen, M. D. (2011). Insulin sensitivity and regional fat gain in response to overfeeding. *Obesity (Silver Spring)*, *19*(2), 269-275.

Votruba, S. B., Mattison, R. S., Dumesic, D. A., Koutsari, C. et Jensen, M. D. (2007). Meal fatty acid uptake in visceral fat in women. *Diabetes*, *56*(10), 2589-2597.

Wanders, A. J., Zock, P. L. et Brouwer, I. A. (2017). Trans Fat Intake and Its Dietary Sources in General Populations Worldwide: A Systematic Review. *Nutrients*, *9*(8).

Wang, G. J., Tomasi, D., Backus, W., Wang, R., Telang, F., Geliebter, A., Korner, J., Bauman, A., Fowler, J. S., Thanos, P. K. et Volkow, N. D. (2008). Gastric distention activates satiety circuitry in the human brain. *Neuroimage*, *39*(4), 1824-1831.

Wang, G. J., Volkow, N. D., Telang, F., Jayne, M., Ma, J., Rao, M., Zhu, W., Wong, C. T., Pappas, N. R., Geliebter, A. et Fowler, J. S. (2004). Exposure to appetitive food stimuli markedly activates the human brain. *Neuroimage*, *21*(4), 1790-1797.

Wang, H., Sreenivasan, U., Hu, H., Saladino, A., Polster, B. M., Lund, L. M., Gong, D. W., Stanley, W. C. et Sztalryd, C. (2011). Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *J Lipid Res*, *52*(12), 2159-2168.

Wang, H., Storlien, L. H. et Huang, X. F. (2002). Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *282*(6), E1352-1359.

Wang, L., Collins, C., Ratliff, M., Xie, B. et Wang, Y. (2017). Breastfeeding Reduces Childhood Obesity Risks. *Child Obes*, *13*(3), 197-204.

Warwick, Z. S., McGuire, C. M., Bowen, K. J. et Synowski, S. J. (2000). Behavioral components of high-fat diet hyperphagia: meal size and postprandial satiety. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *278*(1), R196-200.

Warwick, Z. S., Synowski, S. J., Rice, K. D. et Smart, A. B. (2003). Independent effects of diet palatability and fat content on bout size and daily intake in rats. *Physiol Behav*, *80*(2-3), 253-258.

Watchko, J. F., Daood, M. J. et LaBella, J. J. (1996). Creatine kinase activity in rat skeletal muscle relates to myosin phenotype during development. *Pediatr Res*, *40*(1), 53-58.

Waters, E., de Silva-Sanigorski, A., Hall, B. J., Brown, T., Campbell, K. J., Gao, Y., Armstrong, R., Prosser, L. et Summerbell, C. D. (2011). Interventions for preventing obesity in children. *Cochrane Database Syst Rev*, (12), CD001871.

Wei, W., Pham, K., Gammons, J. W., Sutherland, D., Liu, Y., Smith, A., Kaczorowski, C. C. et O'Connell, K. M. (2015). Diet composition, not calorie intake, rapidly alters intrinsic excitability of hypothalamic AgRP/NPY neurons in mice. *Sci Rep*, *5*, 16810.

Wellman, M. et Abizaid, A. (2015). Knockdown of central ghrelin O-acyltransferase by vivo-morpholino reduces body mass of rats fed a high-fat diet. *Peptides*, *70*, 17-22.

Westerterp, K. R. (2013). Physical activity and physical activity induced energy expenditure in humans: measurement, determinants, and effects. *Front Physiol*, *4*, 90.

Westwood, F. R. (2008). The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol*, *36*(3), 375-384.

Whitmore, C. (2010). Type 2 diabetes and obesity in adults. *Br J Nurs*, *19*(14), 880, 882-886.

WHO. (2006). WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl*, *450*, 76-85.

Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*, *26*(2), 19-39.

Will, M. J., Franzblau, E. B. et Kelley, A. E. (2003). Nucleus accumbens mu-opioids regulate intake of a high-fat diet via activation of a distributed brain network. *J Neurosci*, *23*(7), 2882-2888.

Williams, D. L., Baskin, D. G. et Schwartz, M. W. (2009). Evidence that intestinal glucagon-like peptide-1 plays a physiological role in satiety. *Endocrinology*, *150*(4), 1680-1687.

Winterbourn, C. C. (1993). Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Radic Biol Med*, *14*(1), 85-90.

Wolfe, B. M., Kvach, E. et Eckel, R. H. (2016). Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery. *Circ Res*, *118*(11), 1844-1855.

Woods, S. C., D'Alessio, D. A., Tso, P., Rushing, P. A., Clegg, D. J., Benoit, S. C., Gotoh, K., Liu, M. et Seeley, R. J. (2004). Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiol Behav*, *83*(4), 573-578.

Woods, S. C., Seeley, R. J., Rushing, P. A., D'Alessio, D. et Tso, P. (2003). A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J Nutr*, *133*(4), 1081-1087.

Wu, P., Zhang, F., Dai, Y., Han, L. et Chen, S. (2016). Serum TNF-alpha, GTH and MDA of high-fat diet-induced obesity and obesity resistant rats. *Saudi Pharm J*, *24*(3), 333-336.

Wust, R. C., Gibbings, S. L. et Degens, H. (2009). Fiber capillary supply related to fiber size and oxidative capacity in human and rat skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol*, *645*, 75-80.

Xu, Z. J., Fan, J. G., Ding, X. D., Qiao, L. et Wang, G. L. (2010). Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats. *Dig Dis Sci*, *55*(4), 931-940.

Yamane, S., Harada, N. et Inagaki, N. (2016). Mechanisms of fat-induced gastric inhibitory polypeptide/glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion from K cells. *J Diabetes Investig*, *7 Suppl 1*, 20-26.

Yang, D., Elner, S. G., Bian, Z. M., Till, G. O., Petty, H. R. et Elner, V. M. (2007). Pro-inflammatory cytokines increase reactive oxygen species through mitochondria and NADPH oxidase in cultured RPE cells. *Exp Eye Res*, *85*(4), 462-472.

Yang, N., Liu, X., Ding, E. L., Xu, M., Wu, S., Liu, L., Sun, X. et Hu, F. B. (2009). Impaired ghrelin response after high-fat meals is associated with decreased satiety in obese and lean Chinese young adults. *J Nutr*, *139*(7), 1286-1291.

Yaspelkis, B. B., 3rd, Davis, J. R., Saberi, M., Smith, T. L., Jazayeri, R., Singh, M., Fernandez, V., Trevino, B., Chinookoswong, N., Wang, J., Shi, Z. Q. et Levin, N. (2001). Leptin administration improves skeletal muscle insulin responsiveness in diet-induced insulin-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *280*(1), E130-142.

Yida, Z., Imam, M. U., Ismail, M., Ismail, N., Ideris, A. et Abdullah, M. A. (2015). High fat diet-induced inflammation and oxidative stress are attenuated by N-acetylneuraminic acid in rats. *J Biomed Sci*, *22*, 96.

Yokota, T., Kinugawa, S., Hirabayashi, K., Matsushima, S., Inoue, N., Ohta, Y., Hamaguchi, S., Sobirin, M. A., Ono, T., Suga, T., Kuroda, S., Tanaka, S., Terasaki, F., Okita, K. et Tsutsui, H. (2009). Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *297*(3), H1069-1077.

Yoshida, K., Hirokawa, J., Tagami, S., Kawakami, Y., Urata, Y. et Kondo, T. (1995). Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux. *Diabetologia*, *38*(2), 201-210.

Yuzefovych, L. V., Musiyenko, S. I., Wilson, G. L. et Rachek, L. I. (2013). Mitochondrial DNA damage and dysfunction, and oxidative stress are associated with endoplasmic reticulum stress, protein degradation and apoptosis in high fat diet-induced insulin resistance mice. *PLoS One*, *8*(1), e54059.

Zametkin, A. J., Zoon, C. K., Klein, H. W. et Munson, S. (2004). Psychiatric aspects of child and adolescent obesity: a review of the past 10 years. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, *43*(2), 134-150.

Zemel, M. B. et Shi, H. (2000). Pro-opiomelanocortin (POMC) deficiency and peripheral melanocortins in obesity. *Nutr Rev*, *58*(6), 177-180.

Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C. W., Rauch, R., Klein, C. et Hsueh, A. J. (2005). Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, *310*(5750), 996-999.

Zhang, Q., Lamichhane, R., Chen, H. J., Xue, H. et Wang, Y. (2014). Does child-parent resemblance in body weight status vary by sociodemographic factors in the USA? *J Epidemiol Community Health*, *68*(11), 1034-1042.

Zhang, R., Wang, Z., Fei, Y., Zhou, B., Zheng, S., Wang, L., Huang, L., Jiang, S., Liu, Z., Jiang, J. et Yu, Y. (2015). The Difference in Nutrient Intakes between Chinese and Mediterranean, Japanese and American Diets. *Nutrients*, *7*(6), 4661-4688.

Zhao, Y., Chen, L. B., Mao, S. S., Min, H. X. et Cao, J. (2018). Leptin resistance was involved in susceptibility to overweight in the striped hamster re-fed with high fat diet. *Sci Rep*, *8*(1), 920.

Zheng, J., Xiao, K. L., Chen, L., Wu, C., Hu, X., Zeng, T., Chen, X. Q., Li, W. J., Deng, X., Li, H. et Li, Y. M. (2017). Insulin sensitizers improve the GLP-1 secretion and the amount of intestinal L cells on high-fat-diet-induced catch-up growth. *Nutrition*, *39-40*, 82-91.

Zhou, Q., Cao, J. et Chen, L. (2016). Apelin/APJ system: A novel therapeutic target for oxidative stress-related inflammatory diseases (Review). *Int J Mol Med*, *37*(5), 1159-1169.

Zilberter, T. (2015). Appetite, reward, and obesity: the causes and consequences of eating behaviors. *Front Psychol*, *6*, 411.

Zitka, O., Skalickova, S., Gumulec, J., Masarik, M., Adam, V., Hubalek, J., Trnkova, L., Kruseova, J., Eckschlager, T. et Kizek, R. (2012). Redox status expressed as GSH:GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncol Lett*, *4*(6), 1247-1253.

Zwirska-Korczala, K., Jochem, J., Rybus-Kalinowska, B., Polaniak, R. et Birkner, E. (2003). [Assessment of blood superoxide dismutase, glutathione peroxidase activity and malondialdehyde concentration as oxidation status parameters in obese women]. *Pol Arch Med Wewn*, *110*(1), 725-731.