



Etude de l'effet d'un régime riche en huile de palme sur l'expression génétique des facteurs myogéniques

Chantal GAUZE-GNAGNE^{1,2*}, Absalome MONDE¹, Massara CAMARA-CISSE¹,
Youzan Ferdinand DJOHAN¹, Gervais KOFFI¹, Audrey PELLICER³,
Fabrice RAYNAUD³, Pascal SEYER³, Céline LAURET³, Marion MORENA⁴
Christine FEILLET-COUDRAY⁵, Charles COUDRAY⁵, Georges TIAHOU⁶,
Séraphin KATI-COULIBALY⁷, Jean Paul CRISTOL⁴ et Eric BADIA³

¹ Laboratoire de Biochimie, CHU, Université Félix Houphouët-Boigny, Cocody, Abidjan Côte d'Ivoire.

² Institut National d'Hygiène Publique, INHP, Treichville, Abidjan, Côte d'Ivoire.

³ PhyMedExp, Univ. Montpellier, INSERM, CNRS, Montpellier France.

⁴ PhyMedExp, Univ Montpellier, INSERM, CNRS, Département de Biochimie et Hormonologie, CHU Montpellier, Montpellier, France.

⁵ DMEM, INRAE, Univ. Montpellier, Montpellier, France.

⁶ Université Alassane Ouattara, Bouaké, Côte d'Ivoire.

⁷ Unité des Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, Cocody, Abidjan Côte d'Ivoire.

*Corresponding author; E-mail: gauzech@yahoo.fr; Tel +225 01 01 43 60 34

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'endroit du Fond Ivoirien pour la Recherche et le Conseil Agricole (FIRCA) qui a contribué aux frais de déplacement des Dr GAUZE-GNAGNE et Dr KOFFI à Montpellier, France.

Received: 03-01-2021

Accepted: 24-04-2021

Published: 30-04-2021

RESUME

Un niveau élevé d'acides gras saturés (AGS) dans le sang a un effet délétère sur les muscles squelettiques en inhibant à la fois la régénération des fibres musculaires et la synthèse des protéines musculaires. Du fait de sa richesse en AGS, l'huile de palme est controversée. Cette étude avait pour objectif d'étudier l'effet d'un régime riche en huile de palme (brute et raffinée) sur l'expression des facteurs myogéniques dans le muscle de rats sédentaires et le comparer avec un régime riche en huile d'olive et en Lard. Quarante rats mâles Wistar ont été répartis en 5 groupes de 8 rats chacun : 1 groupe témoin et 4 groupes nourris par des régimes riches en graisse (HFD) contenant respectivement de l'huile de palme brute, de l'huile de palme raffinée, de l'huile d'olive et du lard. Après 12 semaines de régime, les rats ont été sacrifiés et les tissus prélevés. L'expression de *Pax7*, *Myf5*, *MyoD* et *MyoG* a été évaluée par RT-qPCR dans les muscles gastrocnémiens. Aucune différence significative n'a été observée entre régime témoin et HFD concernant les expressions de *Pax7*, *Myf5* et *MyoG*. L'expression de *MyoD* s'est avérée significativement plus élevée dans les animaux HFD ($p=0,0004$) par rapport au témoin ; en particulier dans le régime riche en huile d'olive par rapport aux autres régimes HFD ($p=0,05$). Aucune altération significative de l'expression des gènes des facteurs de régulation myogénique n'a été observée avec l'huile de palme sous ses 2 formes, brute et raffinée. En conclusion, l'huile de palme, malgré sa richesse en AGS, n'a pas d'effet délétère sur la régénération du muscle squelettique.

© 2021 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Régime riche graisses, muscle squelettique, Pax7, Myf5, MyoD, MyoG.

Study of the effect of a diet rich in palm oil on the gene expression of myogenic factors

ABSTRACT

High levels of saturated fatty acids (SFAs) in the blood have a deleterious effect on skeletal muscle by inhibiting both muscle fibre regeneration and muscle protein synthesis. Due to its high content of SFAs, palm oil is controversial. The aim of this study was to investigate the effect of a diet rich in palm oil (crude and refined) on the expression of myogenic factors in the muscle of sedentary rats and to compare it with a diet rich in olive oil and lard. Forty male Wistar rats were divided into 5 groups of 8 rats each: 1 control group and 4 groups fed by high fat diet (HFD), containing respectively crude palm oil, refined palm oil, olive oil and lard. After 12 weeks of diet, the rats were sacrificed and the tissues harvested. The expression of Pax7, Myf5, MyoD and MyoG was assessed by RT-qPCR in the gastrocnemius muscles. No significant differences were observed between the control and HFD with respect to Pax7, Myf5 and MyoG expression. MyoD expression was found to be significantly higher in HFD ($p=0.0004$) compared to the control; in particular, in the high olive oil diet compared to the other HFD ($p=0.05$). No significant alteration in the expression of myogenic regulatory factor genes was observed with palm oil in its two forms, crude and refined. In conclusion, palm oil, despite its high SFA content, does not have a deleterious effect on skeletal muscle regeneration.

© 2021 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: High-fat diet, skeletal muscle, Pax7, Myf5, MyoD, MyoG.

INTRODUCTION

Une perte excessive de masse musculaire est associée à un mauvais pronostic dans plusieurs maladies, notamment les myopathies et les dystrophies musculaires, ainsi que dans les troubles systémiques tels que le cancer, le diabète, la septicémie et l'insuffisance cardiaque (Bonaldo and Sandri, 2013). Le muscle squelettique représente 40% de la masse corporelle. Il conditionne la mobilité des individus, mais aussi pour une bonne part, la réponse à l'insuline et de ce fait a un retentissement direct sur l'état de santé. Il est composé de myocytes, qui sont des fibres musculaires plurinucléées. Leurs noyaux se situent en périphérie des fibres. (Ciciliot et al., 2013 ; Bonaldo et Sandri, 2013). Il contient aussi des cellules souches dites « satellites » qui sont disposées en périphérie des fibres. Ces cellules peuvent être activées à partir d'un état de quiescence pour répondre à des besoins tels que la croissance ou la réparation musculaire (Aas et al., 2013). Lorsque le muscle adulte est endommagé, une cascade d'évènements conduit à l'expression de facteurs de transcription qui vont activer les cellules satellites les conduisant dans un cycle de prolifération cellulaire. Ce processus de

régénération induit de façon chronologiquement ordonnée l'expression de plusieurs facteurs myogéniques : PAX7 qui est impliqué dans l'activation et la sortie de quiescence des cellules satellites ; MYF5 et MYOD sont exprimés dès le stade de prolifération des myoblastes ; et la Myogénine (MYOG) qui est exprimée lors du processus de différenciation des myoblastes (Chen, 2005). Les cellules satellites des muscles squelettiques sont également fortement affectées par l'obésité induite par le régime alimentaire (Vignaud et al., 2007).

Plusieurs études ont démontré qu'une alimentation riche en graisses (HFD) conduit à l'obésité et provoque une myodégénérescence. Une atrophie du muscle squelettique avec une diminution des protéines myofibrillaires s'en suit, phénotypiquement caractérisée par une perte de masse musculaire et de force (Abrigo et al., 2016 ; Rasool et al., 2018). L'obésité induite par le HFD entrave l'activation des cellules satellites et freine la régénération musculaire (Fu et al., 2016). Il a été démontré qu'un niveau élevé d'acides gras saturés dans le sang a un effet délétère sur les muscles squelettiques en inhibant à la fois la

régénération des fibres musculaires (Brown et al., 2015) et la synthèse des protéines musculaires (Woodworth-Hobbs et al., 2014). Pour certains de ces effets, la structure chimique des acides gras semble être un paramètre important dans les réponses obtenues (Lipina and Hundal, 2017).

L'huile de palme (HP), issue de la pulpe du fruit du palmier à huile (*Elaeis guineensis*) est l'huile végétale la plus utilisée dans le monde. Elle se caractérise à l'état brut par sa couleur rouge orangée du fait de sa richesse en bêta-carotène, précurseur de la vitamine A (Monde et al., 2019). L'Indonésie et la Malaisie sont les principaux producteurs avec respectivement 50% et 35% de la production mondiale (Monde et al., 2019). En Afrique tropicale, elle a toujours occupé une position prépondérante dans la production agricole, les échanges et la consommation de corps gras (Aholoukpe et al., 2013). De ce fait en Côte d'Ivoire, la recherche vise à améliorer la productivité du palmier à huile (Gogbe et al., 2010) et à contribuer à la gestion durable des forêts (Gboze et al., 2020). Cependant, l'huile de palme fait l'objet de nombreuses controverses ces dernières années du fait, entre autres, de sa richesse en AGS. La situation est telle que la consommation d'huile de palme est parfois déconseillée par le corps médical et paramédical (Monde AA et al., 2019). Plusieurs comités d'experts se sont réunis et des preuves scientifiques sur le rôle de l'huile de palme dans la sécurité alimentaire, la nutrition et la durabilité ont été analysées (Marangoni et al., 2017 ; Geistero et al., 2019). Il est établi qu'il n'existe aucune preuve des effets spécifiques de la consommation d'huile de palme sur la santé par rapport à d'autres graisses riches en acides gras saturés ; la distribution stéréospécifique des acides gras saturés dans la molécule de triacylglycérol de l'huile de palme limite leur taux d'absorption et leurs effets métaboliques ; en accord avec les directives internationales, l'apport en acides gras saturés doit être maintenu à <10% de l'énergie totale, dans le cadre d'une alimentation équilibrée ; dans ces limites, aucun effet délétère de la consommation d'huile de palme sur la santé humaine (et plus particulièrement sur les

maladies cardio-vasculaires ou le risque de cancer) n'a pu être démontré avec certitude (Marangoni et al., 2017 ; Geistero et al., 2019). Nous avons récemment montré que l'expression des gènes de deux myokines aux propriétés anti- inflammatoires (*Il-10* et *myonectine*), était plus élevée avec les régimes riches en huile de palme. Plus précisément, l'*Il-10* est plus élevée dans le cas de l'huile de palme brute et la *myonectine* dans le cas de l'huile de palme raffinée (Gauze-Gnagne et al., 2020). L'objectif de cette étude était d'analyser l'effet d'un régime riche en huile de palme (brute et raffinée) sur l'expression des facteurs myogéniques dans le muscle de rats sédentaires par comparaison avec d'autres régimes riches en graisse saturées et insaturées (lard et huile d'olive).

MATERIEL ET METHODES

Cadre d'étude

Les rats ont été hébergés au CECEMA (Centre d'Elevage et de Conditionnement Expérimental des Modèles Animaux) de L'université de Montpellier. Les qPCR ont été réalisées à l'Unité U 1046 de l'Institut Universitaire de Recherche Clinique (IURC) de Montpellier.

Population d'étude

L'échantillon d'étude était constitué de 40 rats mâles Wistar âgés de 6 semaines fournis par le laboratoire Janvier Labs de Le Genet –St-Isle en France.

Méthodologie

Les rats ont été répartis au hasard en 5 groupes de 8 rats après une semaine d'adaptation au nouvel environnement. Ils ont été mis en cage par paire, dans un environnement contrôlé à une température entre 20 et 22 °C, un taux d'hygrométrie entre 45 et 60% et un cycle jour /nuit standard de 12 h pendant 12 semaines.

Le régime alimentaire

Le groupe témoin a été nourri par un régime de 3856 Kcal dont 12% provenaient des lipides sous forme d'huile de Soja. Les régimes riches en graisse étaient de 5192 Kcal dont 56% provenaient des lipides. Il y avait au

total 4 régimes riches en graisse (HFD, High Fat Diet) : 1 régime riche en huile de palme rouge (cPO, crude Palm Oil), contenant 2,5% d'huile de soja et 30% de cPO ; 1 régime riche en huile de palme raffinée (rPO, refined Palm Oil), contenant 2,5% d'huile de soja et 30% de rPO sous forme d'oléine de palme ; 1 régime riche en huile d'olive (OO, Olive Oil) contenant 2,5% d'huile de soja et 30% d'OO et 1 régime riche en Lard (contenant 2,5% d'huile de soja et 30% de Lard). Le détail de la composition des régimes est présenté dans le Tableau 1. Tous les régimes contenaient un apport en huile de Soja afin de maintenir un apport adéquat en acide linoléique permettant d'éviter une altération de la croissance observée en cas de carence en acide Linoléique. La composition des régimes, a été élaborée selon les recommandations des régimes des rats de l'American Institut of Nutrition AIN-93 (Reeves et al., 1993). L'accès des animaux à l'eau et à la nourriture était libre. La pesée des animaux s'est effectuée une fois par semaine. Les animaux ont été pris en charge conformément aux directives du Comité du Soins Animal de l'Université de Montpellier. Notre protocole a été approuvé par le comité d'Ethique local de Montpellier, France.

Au terme des 12 semaines, les animaux ont été sacrifiés après anesthésie au phénobarbital (Ceva Santé Animale, Libourne, France). Les tissus musculaires (soléus et gastrocnémiens) et les tissus adipeux viscéraux ont été prélevés et rincés dans une solution de NaCl à 0,9%, pesés et congelés dans l'azote liquide puis conservés à -80 °C.

La réaction de polymérisation en chaîne en temps réel, (Polymerase Chain Reaction, qPCR)

Afin d'étudier l'expression des gènes impliqués dans la myogenèse nous avons procédé à l'extraction au TRIzol (Invitrogen Life Technologies, Cergy Pontoise, France) des ARNm à partir de 50 mg de muscle gastrocnémien à l'aide de l'homogénéiseur à

billes FastPrep-24TM 5G (MP Biomedicals, France). La concentration totale d'ARN a été mesurée avec le spectrophotomètre NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Puis 500ng de ARN totaux ont été rétrotranscrit en ADNc par une enzyme du kit Takara (Takara Bio Europe, France). Les ADNc obtenus ont été dilués au 1/10e et conservés à -80 °C.

Nous avons utilisé la base de donnée « Ensembl » pour récupérer les séquences nucléotidiques des exons du ou des transcrits de notre gène d'intérêt. Le logiciel Primer 3 et le logiciel « Beacon » nous ont permis de sélectionner les couples d'amorces (Tableau 2).

Un MIX (16,7 µl) contenant le couple d'amorces, du Sybr Green et de l'eau Ultra pure ont été combinés à l'ADN (5,2 µl) dans chaque eppendorf. Puis 10 µl du mélange ont été déposés en double dans les puits de la plaque de réaction. Les plaques ont été lues grâce au LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche Applied Science, France) qui effectue des cycles d'amplification de l'ADN à 3 températures différentes permettant la dénaturation des doubles brins, l'hybridation des amorces et l'élongation. L'abondance de l'ARN d'intérêt est quantifiée par mesure de fluorescence émise lorsque le Sybr Green s'intercale entre les deux brins d'ADN. Les résultats ont été ensuite traités en effectuant un ratio du niveau d'expression du gène d'intérêt sur le niveau d'expression d'un gène de ménage (ou gène de référence). Le gène de référence utilisé est le gène Rplp0 (60S acidic ribosomal protein P0).

L'analyse statistique

Le logiciel STATVIEW a été utilisé pour effectuer l'analyse statistique. Les tests statistiques de Mann et Whitney ont servi à l'évaluation des différences entre le groupe contrôle et le groupe des régimes riches en graisse (Ctrl/HF). Les différents régimes riches en graisse ont été comparés avec le Test de Kruskal-Wallis suivi d'un post hoc test de Dunn (Fat/Fat).

Tableau 1 : Composition des différents régimes.

INGREDIENTS (g/kg)	CONTRÔLE	REGIME RICHE EN GRAISSE			
		cPO	rPO	OO	Lard
Caséine	165	200	200	200	200
Amidon maïs	442,5	233,8	233,8	233,8	233,8
Maltodextrine	144	80	80	80	80
Saccharose	100	53	53	53	53
Huile de Soja	50	25	25	25	25
Huile de palme rouge	0	300	0	0	0
Oléine de palme	0	0	300	0	0
Huile olive extra v.	0	0	0	300	0
Lard	0	0	0	0	300
Cellulose	50	50	50	50	50
Minéraux (AIN-93M)	35	42	42	42	42
Vitamines (AIN-93M)	10	12	12	12	12
L-Cystine	2	2,4	2,4	2,4	2,4
Chlorure de choline	1,5	1,8	1,8	1,8	1,8
Valeur calorique (Kcal)	3856	5192	5192	5192	5192
% Lipides dans RCT	12%	56%	56%	56%	56%

cPO: huile de palme brute (crude Palm Oil) ; rPO : huile de palme raffinée (refined Palm Oil) ; OO : huile d'olive (Olive Oil).
RCT: ration calorique totale.

Tableau 2: Séquences des amorces utilisées pour quantifier l'expression de l'ARNm.

Gène	Forward	Reverse
<i>MyoD</i>	5'-CCTACTACAGTGAGGCGTCC-3'	5'-CTGTTCTGCATCGCTTGAGG-3'
<i>MyoG</i>	5'-CCAGTGAATGCAACTCCCAC-3'	5'-TATCCTCCACCGTGATGCTG-3'
<i>Myf5</i>	5'-ACCAGAGACTTCCCAAGGTG-3'	5'-TGTTCTTTCGGGACCAGACA-3'
<i>Pax 7</i>	5'-TCCATCAAGCCAGGAGACAG-3'	5'-CCGTCTCCACAGGAAGAAGT-3'

RESULTATS

Poids des muscles, du tissu adipeux et poids total des rats

A l'issue des 12 semaines de régime, il a été observé une augmentation significative du poids total des rats nourris avec des régimes riches en graisse (HFD) par rapport aux rats du groupe témoin (Tableau 3). Aucune différence significative n'a été observée entre le poids total des rats nourris avec les différents régimes riches en graisse. Le TA adipeux était significativement élevé chez les rats nourris avec un régime riche en graisse et ceci, indépendamment du type de graisse. Concernant le poids des muscles, nous avons pu observer une augmentation significative du poids absolu du muscle soléaire des rats nourris avec un régime HFD indépendamment du type de graisse. Cependant le poids relatif du muscle soléaire (ratio du poids absolu sur le poids total) ne présentait pas de différence significative entre HFD et Témoins. Nous avons observé le phénomène inverse au niveau des muscles gastrocnémien.

Expression des facteurs myogéniques

Une tendance à l'augmentation non significative ($p=0,079$) de l'expression du gène de Pax7 entre les témoins et l'ensemble des groupes HFD a été observée. Cependant les différences lorsque l'on compare les différents régimes riches en graisse entre eux, ne sont pas significatives (Figure 1).

Tous les groupes HFD ont présenté une expression du gène *Myf5* qui n'est pas

significativement différente de celle du groupe témoin. Lorsque les différents régimes riches en graisse sont comparés entre eux, une tendance ($p=0,08$) à la diminution de cette expression est observée pour les groupes rPO et Lard (Figure 2).

Les variations observées de l'expression de *MyoG* ne sont pas significatives aussi bien lorsque l'on compare l'expression Ctrl/HF que Fat/Fat. (Figure 3). Dans ce cas, du fait de la valeur élevée de l'écart type du groupe cPO, le test statistique manque de puissance.

Des différences significatives ont été observées au niveau de l'expression de l'ARNm du gène du facteur myogénique *MyoD* (Figure 4). L'expression du gène s'est avérée significativement plus faible dans le groupe Témoin que dans l'ensemble des groupes riches en graisse ($p=0,0004$). D'autre part, en comparant les régimes riches en graisse, il apparaît une expression significativement plus élevée de *MyoD* ($p = 0.05$) dans le régime riche en huile d'olive.

Dans la Figure 5, une corrélation positive a été observée entre *MyoD* et *Pax7* ($r=0,44$; $p=0,0039$). D'autre part, bien que l'expression de *MyoG* n'ait pas présenté de différence significative entre le groupe Témoin et ceux correspondant aux régimes riches en graisse, une corrélation positive entre *Myf5* et *MyoG* ($r=0,56$; $p=0,002$) a été observée (Figure 6).

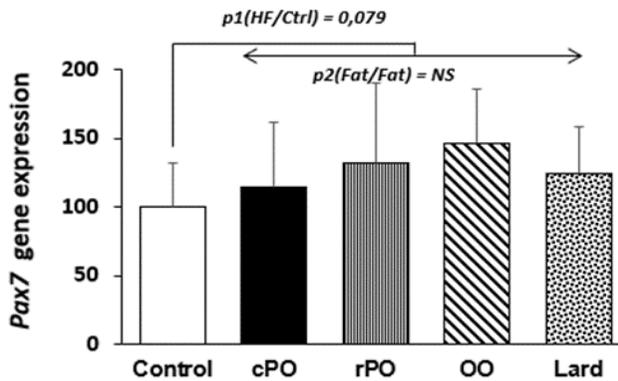


Figure 1 : Niveau d'expression de l'ARNm de *Pax7* dans les différents groupes : (Ctrl = 100%).

p_1 (HF/Ctrl) = valeur p d'un test statistique de Mann-Whitney lors de la comparaison de tous les groupes HF avec le groupe témoin (Ctrl), et p_2 (Fat/Fat) = valeur p d'un test statistique de Kruskal-Wallis lors de la comparaison de chaque groupe à forte teneur en matière grasse entre eux.

Tableau 3 : Caractéristiques des données biométriques des Rats.

	Ctrl	cPO	rPO	OO	Lard	P¹	P²
Poids Initial (g)	209 ± 12	203 ± 4	204 ± 5	207 ± 5	208±7	NS	NS
Poids Final (g)	528 ± 27a	609 ± 40b	612 ± 52b	588 ± 49b	611±66b	0,003*	NS
Poids du TA viscéral (g)	28,6 ± 8,2a	44,7 ± 9,1b	46,0 ± 7,8b	42,7 ± 10,5b	46,0 ±11,5b	0,0002*	NS
Gastrocnémien gauche, g	2,81±0,16	2,91±0,25	2,94±0,22	2,89±0,23	2,99±0,18	NS	NS
Gastrocnémien gauche /TOT, %	0,53±0,02a	0,48±0,04b	0,49±0,05b	0,49±0,04b	0,49±0,04b	0,0026*	NS
Gastrocnémien droit, (g)	2,83±0.16	2,97±0.21	2,98±0,25	2,85±0,28	3,01±0,17	NS	NS
Gastrocnémien droit /TOT, %	0,54±0,02a	0,49±0,04b	0,49±0,05b	0,49±0,05b	0,50±0,04b	0,0062*	NS
Soléaire gauche (g)	0,22±0,03a	0,27±0,02b	0,26±0,03b	0,26±0,03b	0,26±0,02b	0.0007*	NS
Soléaire gauche/ TOT,%	0,041±0,004	0,044±0,003	0,044±0,005	0,043±0,004	0,043±0,005	NS	NS
Soléaire droit (g)	0,23±0,03a	0,26±0,02b	0,26±0,02b	0,25±0,02b	0,25±0,03b	0.0149*	NS
Soléaire droit /TOT,%	0,043±0,005	0,043±0,003	0,043±0,004	0,043±0,005	0,040±0,005	NS	NS

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET (n = 8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes Les rats ont été nourris avec leur régime alimentaire respectif pendant 12 semaines. cPO: huile de palme brute (crude Palm Oil) ; rPO : huile de palme raffinée (refined Palm Oil) ; OO : huile d'olive (Olive Oil). p1 = valeur p d'un test statistique Mann-Whitney lors de la comparaison de tous les groupes à forte teneur en graisse (HF) et du groupe témoin (Ctrl). p2 = valeur p d'un test statistique Kruskal-Wallis lors de la comparaison de cPO, rPO, OO et Lard. *indique la significativité à p <0,05. TA : tissu adipeux.

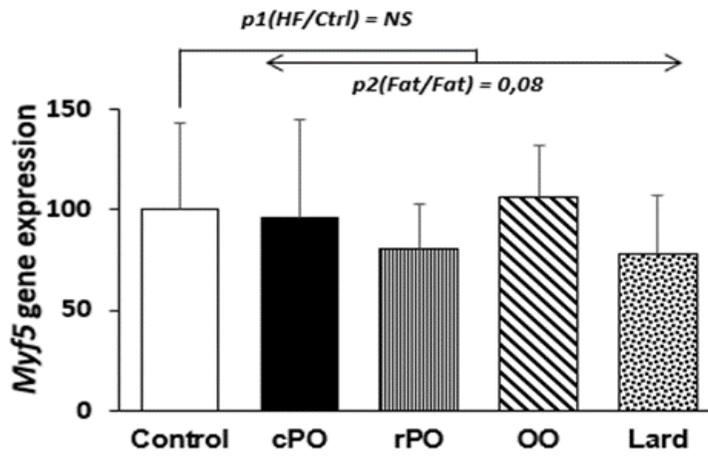


Figure 2: Niveau d'expression de l'ARNm de *Myf5* dans les différents groupes : (Ctrl = 100%). Les règles statistiques sont identiques à celles de la Figure 1.

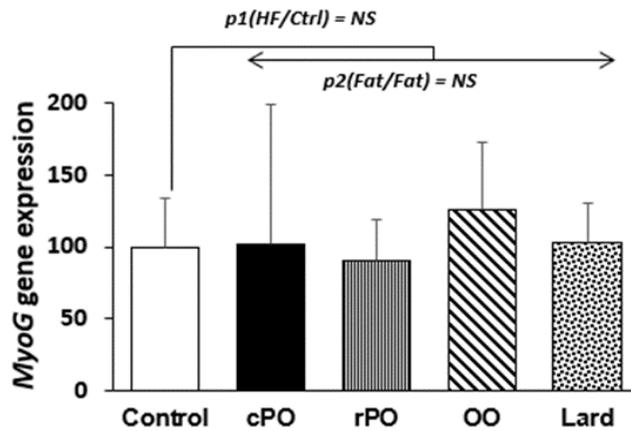


Figure 3: Niveau d'expression de l'ARNm de *MyoG* dans les différents groupes : (Ctrl = 100%). Les règles statistiques sont identiques à celles de la Figure 1.

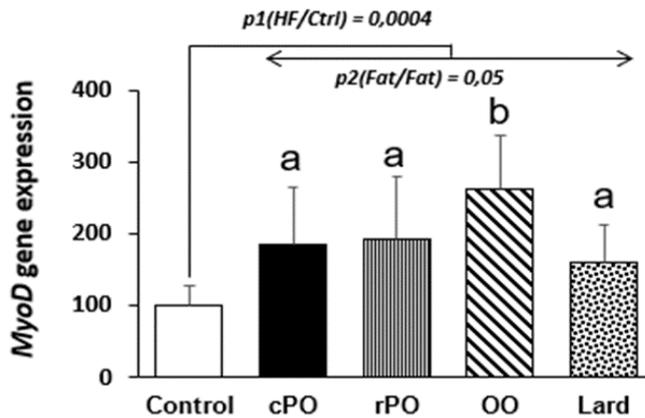


Figure 4: Niveau d'expression de l'ARNm de *MyoD* dans les différents groupes : (Ctrl = 100%). Les règles statistiques sont identiques à celles de la Figure 1 et des lettres différentes indiquent une différence de significativité.

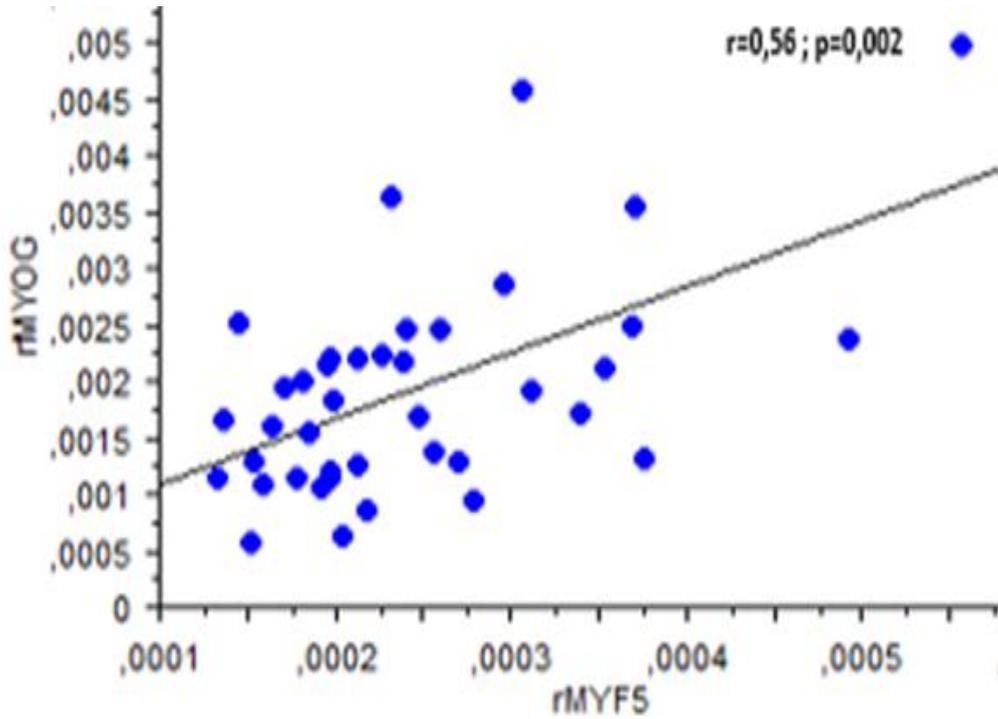


Figure 5 : Graphe de corrélation entre *MyoG* et *Myf5*.

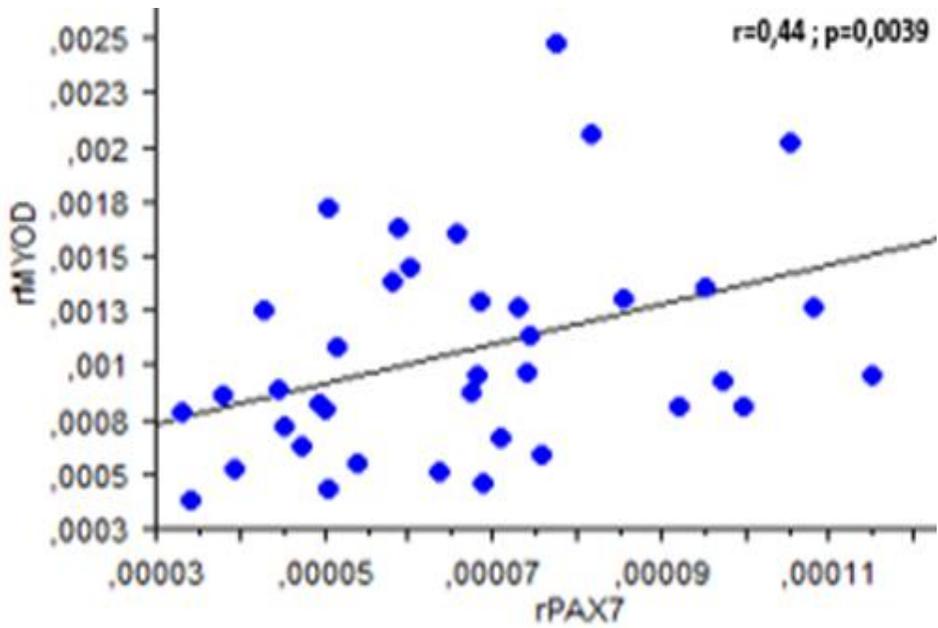


Figure 6 : Graphe de corrélation entre *MyoD* et *Pax7*.

DISCUSSION

L'accumulation excessive de lipides résultant d'un apport élevé d'acides gras plasmatiques est liée à la pathogenèse du syndrome métabolique et des maladies cardiaques. Le terme "lipotoxicité" a été inventé pour décrire le fait que l'accumulation de lipides entraîne un dysfonctionnement cellulaire au niveau de certains tissus, notamment le muscle squelettique, le cœur, le pancréas et le foie (Turpin et al., 2009).

Les facteurs de régulation myogéniques qui comprennent, Myf5, MyoD, et la myogénine (MyoG), contrôlent essentiellement le processus de développement des muscles squelettiques (myogenèse). Divers stimuli extracellulaires et des voies de signalisation distinctes modulent l'expression des facteurs de régulation myogénique (Frias et al., 2016).

Le microenvironnement d'une cellule peut avoir un impact majeur sur ses propriétés. Tant dans des conditions physiologiques que pathologiques, les contacts de cellule à cellule, la signalisation paracrine, la disponibilité d'oxygène et de nutriments, la matrice extracellulaire et le stress mécanique, tous ces facteurs ont un impact sur les cellules et influencent leur comportement (Rojas-Ríos et González-Reyes, 2014). Cela est particulièrement vrai pour les cellules souches qui, en raison de leur plasticité, peuvent modifier radicalement leur état de prolifération et de différenciation en réponse à des changements dans leur niche (Machado et al., 2017).

Il est intéressant de noter que chaque graisse utilisée est un mélange complexe d'acides gras avec différents niveaux d'insaturation, mais aussi de composés mineurs (polyphénols, phytostérols, caroténoïdes, vitamines, etc.) influençant certainement le microenvironnement des cellules.

Le terme « huile de palme » recouvre un ensemble de produits, ce qui peut induire une certaine confusion par rapport à d'autres types d'huiles. En effet, la composition des différentes fractions actuellement utilisées par l'industrie sous différentes marques s'écarte du

profil standard 50%/50% de l'huile de palme brute. Dans ce contexte, l'oléine de palme contient 44% d'AGS et 56% d'AGI. Ses caractéristiques la rendent plus liquide que l'huile de palme brute. Elle est utilisée dans l'industrie pour les chips etc. A l'autre extrémité du spectre se trouve la fraction de stéarine de palme avec une teneur plus élevée en AGS (68%) et une teneur plus faible en AGI 32%. Celle-ci est plutôt utilisée pour les pâtisseries et constitue une alternative à l'utilisation des huiles hydrogénées, réduisant ainsi la consommation des AG trans (Gesteiro et al., 2019).

La plupart des travaux scientifiques portant sur l'expression des facteurs myogéniques dans le muscle squelettique se font dans le cadre de l'étude de la régénération musculaire. En général elles sont effectuées après une lésion mécanique (Mackey and Kjaer, 2017) ou chimique (Fu et al., 2016 ; Hu et al., 2010). Dans ce contexte, ces études analysent en fait l'expression des facteurs myogéniques secondaires à l'agression provoquée par ces lésions mécaniques ou chimiques. Notre étude s'est proposé d'évaluer l'effet d'une variation du microenvironnement du muscle squelettique créé par la lipotoxicité secondaire à un régime riche en graisse (Turpin et al., 2009 ; Kusminski et al., 2009).

Plusieurs études ont concerné l'effet des régimes riches en graisses sur l'expression des facteurs myogéniques, cependant, l'originalité de notre étude réside dans le fait qu'elle compare l'effet de corps gras de nature et de compositions différentes. Nous nous sommes intéressés à plusieurs types de graisses couramment utilisées dans l'alimentation et ayant des compositions différentes d'acides gras ou en composants mineurs comme les caroténoïdes, la vitamine E, les polyphénols, les stérols, etc. Nous avons donc choisi de comparer l'huile de palme (qui peut être utilisée pour l'alimentation soit brute (cPO), soit raffinée sous forme d'oléine de palme (rPO)), à l'huile d'olive vierge (OO) et au Lard.

Un premier niveau d'analyse des résultats obtenus concerne la comparaison du

régime témoin avec l'ensemble des régimes riches en graisses, et un deuxième niveau concerne la différence entre les différents régimes riches en graisses entre eux.

Comparaison de l'ensemble des régimes riches en graisse et du régime témoin

Comme attendu, le poids des rats ayant reçu le régime riche en graisses était significativement plus élevé que ceux ayant reçu le régime témoin. La consommation de graisses est un facteur important dans l'augmentation du poids corporel. De nombreuses études suggèrent que la capacité de l'organisme à oxyder les graisses alimentaires est un facteur de risque majeur pour un bilan énergétique positif. Sur la base de plusieurs études effectuées, il a été conclu que l'épidémie d'obésité est principalement due à un apport alimentaire élevé, en particulier sous forme de graisse, et que l'activité physique peut être un outil permettant de moduler l'effet de l'apport en graisse sur la graisse corporelle (Kusminski et al., 2009). Nous avons observé une augmentation significative du tissu adipeux viscéral (Tableau 3) en accord avec l'étude de Frias et al. (2016), qui ont obtenu les mêmes résultats, chez des souris dans des conditions à peu près similaires aux nôtres également après 12 semaines de régimes riches en graisse (59% des Kcal provenant des graisses). Dans cette même étude, une baisse significative du poids relatif du muscle gastrocnémien conforte nos résultats. Dans les travaux de Rocha-Rodrigues et al (2015), après 17 semaines de régime HF, une tendance similaire pour ce pourcentage a été obtenue, bien que non significative pour les gastrocnémiens, et dans l'étude de Seo et al (2014), après 10 semaines de régime HF, le poids moyen des gastrocnémiens montre une tendance (non significative) à être plus faible.

Cette réduction significative du poids relatif du gastrocnémien nous a amené à explorer l'expression génétique des acteurs clés de la myogenèse. Le facteur de transcription Pax7 active des composants de plusieurs voies de signalisation qui sont impliquées dans la myogenèse adulte. Pax7

est uniformément exprimé à des niveaux élevés dans les cellules satellites et joue un rôle essentiel dans la régulation de leur fonction. Le facteur Pax7 régule la fonction des cellules souches dans la myogenèse squelettique (Soleimani et al., 2012). L'entretien et la réparation des tissus musculaires adultes sont dirigés par des cellules satellites. Les cellules satellites quiescentes sont activées par l'exercice ou un stress (blessure, lipotoxicité) et entrent dans le cycle cellulaire pour produire à partir d'un pool quiescent des cellules précurseurs myogéniques qui subissent plusieurs cycles de division avant d'entrer dans la différenciation terminale et fusionner avec des myofibres multi nucléées (Chargé and Rudnicki, 2004 ; Turpin et al., 2009 ; Rojas-Ríos and González-Reyes, 2014; Machado et al., 2017).

Dans la présente étude, les rats étaient sédentaires. Nous pouvons donc présumer que l'expression des facteurs myogéniques était plutôt induite par le microenvironnement des cellules satellites quiescentes. Nous avons pu observer une tendance à l'augmentation, bien que non significative ($p=0,079$) de l'expression de Pax7 dans les groupes de rats ayant été soumis à un régime riche en graisse. Cette augmentation pourrait être attribuée à la lipotoxicité induite par le régime et conduisant à un microenvironnement délétère. La littérature décrit que dans un tel environnement, les cellules satellites vont exprimer le facteur de transcription Pax7 qui se trouve génétiquement en amont des deux autres facteurs de régulation myogéniques MyoD et Myf5 (Buckingham et Relaix, 2007b). En outre, les cellules satellites existent en tant que population hétérogène basée sur l'expression de *Myf5*, une caractéristique qui divise le pool de cellules satellites en une sous-population de cellules souches auto-renouvelables (*Myf5*-) et de progéniteurs engagés (*Myf5*+) (Kuang et al., 2007). Concernant l'expression de *Myf5*, aucune différence significative n'a été observée entre témoins et régimes riches en graisse. En outre nous avons observé une expression relativement faible en général. Des travaux comparant les fonctions moléculaires

de Myf5 et MyoD, deux facteurs de transcription très apparentés qui régulent la spécification et la différenciation des muscles squelettiques, ont indiqué que Myf5 n'a pas de domaine d'activation fort et n'induit pas une transcription robuste (Conerly et al., 2016). Cet état de chose pourrait expliquer la faible expression de *Myf5*.

L'étude des cascades complexes de signalisation et de transcription qui contrôlent le moment précis de l'expression des gènes régulateurs spécifiques aux muscles ont permis de mettre en évidence les facteurs myogéniques dont, *MyoD* qui est un régulateur clé de l'engagement dans la différenciation des cellules progénitrices musculaires (Conerly et al., 2016 ; Tapscott et al., 1988). *MyoD* est un maître régulateur de la myogenèse (Scionti et al., 2017). La hausse très significative de l'expression de *MyoD* observée dans les régimes riches en graisse ($p=0,0004$) en comparaison au groupe témoin est en contradiction avec ce que l'on observe dans la plupart des études. En effet Fu et al. (2016), ont observé une baisse significative de *MyoD* chez les souris nourries pendant 12 semaines par des régimes riches en graisse après une lésion musculaire avec une cardiotoxine. Cette tendance, bien que non significative a également été observée dans l'étude de Hu et al. (2010) chez des souris nourries avec un régime riche graisses pendant 8 mois par rapport aux témoins après injection de cardiotoxine dans le muscle Tibial antérieur. La différence d'expression de *MyoD* entre notre étude et celles de Fu et Hu pourrait s'expliquer par le fait que dans ces dernières, les groupes témoins et HF sont soumis à une lésion par injection de cardiotoxine qui constitue alors une agression aigue. Dans notre étude, l'agression qui est simplement due à la lipotoxicité, est de nature différente et conduit à une augmentation plutôt qu'une diminution de l'expression de *MyoD*.

Dans la présente étude, il peut être considéré que « l'agression chronique », du fait de la lipotoxicité secondaire au régime riche en graisse, provoque cette augmentation significative de l'expression de *MyoD* par

rapport à l'expression des rats témoins dont les muscles ne sont pas soumis à une quelconque agression. L'étude de Frias et al. (2016), réalisée sur des souris, dans des conditions similaires aux nôtres a mis en évidence une expression de *MyoD* significativement basse à 4 et 8 semaines de régime mais à 12 semaines, la différence entre HF et témoin n'était plus significative. La corrélation positive qui a été observée entre *MyoD* et *Pax7* ($r=0,44$; $p=0,0039$) confirme bien que *MyoD* est un marqueur de l'activation et de la prolifération des cellules satellites, dans les muscles des rats HFD (Scionti et al., 2017). Bien que l'expression de *MyoG* n'ait pas présenté de différence significative entre témoins et régimes riches en graisse, il a toutefois été observé, une corrélation positive entre *Myf5* et *MyoG* ($r=0,56$; $p=0,002$).

Comparaison des différents régimes riches en graisse

L'absence de différence significative au niveau du poids total et des dépôts de tissus adipeux des rats nourris à l'huile de palme, à l'huile d'olive et au Lard confirme bien qu'« aucune huile ne fait plus grossir qu'une autre ». La valeur calorique de toute matière grasse étant de 9 Kcal/g, est indépendante de sa teneur en composés mineurs (Caroténoïdes, vitamine E, polyphénols...), ceux-ci étant dépourvus de valeur calorique. Cette tendance a été observée également au niveau des poids des muscles gastrocnémiens et soléaires. La nature des acides gras des huiles (AGS ou AGMI) ou même leur teneur en composés mineurs (caroténoïdes, la vitamine E ou les polyphénols) ne semble pas influencer les valeurs biométriques des rats au bout de 12 semaines de régime. Les résultats obtenus par Djohan et al. (2019) lors d'une étude préliminaire sur cette population de rats avaient mis en évidence une absence d'inflammation et une absence de stress oxydant. Cependant une résistance à l'insuline avait été observée dans tous les régimes, or il se trouve que celle-ci pourrait entraîner des modifications au niveau de la signalisation induite par les facteurs de régulation myogénique (Aas et al., 2013).

Aucune modification significative de l'expression des facteurs de régulation myogénique n'a été observée, aussi bien avec le régime riche en huile de palme brute qu'avec le régime riche en huile de palme raffinée. Cependant, le régime dont l'expression des facteurs myogéniques était systématiquement supérieure à l'expression des autres régimes était celui riche en huile d'olive. Cette élévation était significative pour *MyoD* ($p=0,05$), à tendance forte avec *Myf 5* ($p=0,08$). La nature de l'AG ou la composition en composés mineurs pourraient donc influencer l'expression de *MyoD*. D'après les arguments que nous avons exposés plus haut, il pourrait-être envisagé que l'huile d'olive puisse présenter une lipotoxicité plus accrue que l'huile de palme et le lard. En effet, ce qui diffère entre l'huile d'olive, l'huile de palme et le lard, est à la fois sa composition en AGMI et en composés mineurs. Les travaux de Djohan et al. (2019) comparant l'huile de palme rouge et raffinée à l'huile d'olive avait mis en évidence chez les rats nourris au régime riche en huile d'olive au bout de 12 semaines, une stéatose hépatique, compromettant le métabolisme lipidique et l'intégrité du foie. En outre, des travaux récents ont démontré que la régénération et l'entretien du muscle squelettique ont une relation étroite avec l'obésité et le dysfonctionnement du foie. L'état physiologique du muscle semble corrélé avec la présence d'un état pathologique du foie dans le cas de la stéatose non alcoolique observée chez les personnes en surpoids (Hong et al., 2014 ; Milić et al., 2014 ; Rasool et al., 2018).

Des études histologiques des muscles, permettant de quantifier les différentes cellules satellites et d'observer la morphologie des myocytes permettront de mieux étayer notre hypothèse. Ces résultats viendront enrichir nos travaux sur l'influence des régimes alimentaires riches en graisses sur le métabolisme musculaire. Nous avons déjà montré que ces régimes pouvaient moduler l'expression de certaines myokines, soit de manière dépendante, soit indépendamment de leur composition (Gauze-Gnagne et al., 2020).

Conclusion

La comparaison de l'expression des rats nourris par un régime riche en graisse et de rats témoins a permis de confirmer la conclusion tirée par Hu et al. (2010) selon laquelle ce type de régime entrave la maturation des myofibres mais pas l'activation des cellules satellites dans la régénération des muscles (Hu et al., 2016). La spécificité de cette étude qui a permis de comparer des matières grasses riches en AGS (huile de palme brute et raffinée et Lard) et celles riches en AGMI (huile d'olive) permet d'envisager que l'huile d'olive pourrait altérer significativement la myogenèse comparativement à l'huile de palme (rouge et raffinée) et au lard. Cette altération pourrait-être en relation étroite avec les perturbations hépatiques qui ont pu être observées avec l'huile d'olive décrites dans la littérature (Hong et al., 2014 ; Djohan et al., 2019). Cependant, les quantités excessives d'huile utilisées dans ces régimes riches en graisse ne sont pas superposables à celles qui auraient été utilisées dans un modèle humain. Bien qu'un certain nombre d'hypothèses aient été avancées, les mécanismes moléculaires impliqués dans la perturbation de la myogenèse par l'alimentation riche en graisse restent encore à élucider. En ce qui concerne l'huile de palme, il convient de noter qu'aucune altération significative de l'expression des gènes des facteurs régulation de la myogenèse n'a été observée aussi bien dans les régimes riches en huile de palme brute que dans les régimes riches en huile de palme raffinée.

CONFLITS D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts pour cet article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

EB, JPC, AM, MC-C, GT et SK-C ont supervisé l'ensemble de l'étude. EB, JPC, FR et CG-G ont analysé et interprété les données. CG-G, AP, PS, YFD, FR et EB ont effectué les recherches bibliographiques. EB, CG-G, AP, MM, et GK ont participé à la rédaction de l'article. CC et CF-C ont conçu les régimes.

CG-G et CL ont réalisé des expériences de qPCR ; FD a géré l'alimentation des animaux.

CF-C et Coudray C ont géré les sacrifices d'animaux et la conservation des muscles.

REFERENCES

- Aas V, Siril SB, Feng YZ, Kase ET, Jensen J, Bajpeyi S, Thoresen GH, Rustan A. 2013. Are Culture Human Myotubes Far from Home? *Cell and Tissue Research*, **354**(3): 671-82. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1655-1>
- Abrigo J, Rivera JC, Aravena J, Cabrera D, Simon F, Ezquer F, Ezquer M, Cabello-Verrugio C. 2016. High fat diet induced skeletal muscle wasting is decreased by mesenchymal stem cells administration: implications on oxidative stress, ubiquitin proteasome pathway activation, and myonuclear apoptosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 9047821. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/9047821>
- Aholoukpe H, Vissoh VP, Amadji G, Deleporte P, Dubos B, Nodichao L, Kakai RG, Chotte JL, Blavet D. 2013. Typologie des plantations villageoises de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) dans le département du Plateau au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **7**(3): 978-999. DOI: <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.8>
- Bonaldo P, Sandri M. 2013. Cellular and Molecular Mechanisms of Muscle Atrophy. *Disease Models & Mechanisms*, **6**(1): 25-39. DOI: <https://doi.org/10.1242/dmm.010389>
- Brown LA, Lee DE, Patton JF, Perry Jr. RA, Brown JL, Baum JJ, Smith-Blair N, Greene NP, Washington TA. 2015. Diet-induced obesity alters anabolic signaling in mice at the onset of skeletal muscle regeneration. *Acta Physiologica*, **215**: 46-57. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.12537>
- Buckingham M, Relaix F. 2007b. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **23**:645–673. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123438>
- Chargé SB, Rudnicki MA. 2004. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol. Rev.*, **84**: 209–238. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2003>
- Chen Y. 2005. Androgen Regulation of Satellite Cell Function. *Journal of Endocrinology*, **186**(1): 21-31. DOI: <https://doi.org/10.1677/joe.1.05976>
- Ciciliot S, Rossi AC, Dyar KA, Blaauw B, Schiaffino S. 2013. Muscle Type and Fiber Type Specificity in Muscle Wasting. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **45**(10): 2191-99. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.05.016>
- Conerly ML, Yao Z, Zhong JW, Groudine M, Tapscott SJ. 2016. Distinct Activities of Myf5 and MyoD Indicate Separate Roles in Skeletal Muscle Lineage Specification and Differentiation. *Developmental Cell*, **36**: 375–385. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.01.021>
- Djohan YF, Badia E, Bonafos B, Fouret G, Lauret C, Lambert K, Raynaud F, Gayrard N Jover B, Monde AA, Cristol JP, Coudray C, Feillet-Coudray C. 2019. High dietary intake of palm oils compromises glucose tolerance whereas high dietary intake of olive oil compromises liver lipid metabolism and integrity. *Eur. J. Nutr.*, **58**(8): 3091-3107. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1854-3>
- Frias de Toledo F, de Mendonça M, Martins Roque A, Gindro AF, Cogliati B, Curi R, Rodrigues AC. 2016. MyomiRs as Markers of Insulin Resistance and Decreased Myogenesis in Skeletal Muscle of Diet-Induced Obese Mice. *Front. Endocrinol.*, **7**: 76. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00076>
- Fu X, Zhu M, Zhang S, Foretz M, Viollet B, Min D. 2016. Obesity Impairs Skeletal

- Muscle Regeneration Through Inhibition of AMPK. *Diabetes*, **65**:188–200. DOI: <https://doi.org/10.2337/db15-0647>
- Gauze-Gnagne C, Raynaud F, Djohan YF, Lauret C, Feillet-Coudray C, Coudray C, Monde A, Koffi G, Morena M, Camara-Cisse M, Cristol JP, Badia E .2020. Impact of diets rich in olive oil, palm oil or lard on myokine expression in rats. *Food Funct*, **11**(10): 9114-9128. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0fo01269f>
- Gboze AE, Adingra OM, Sanogo A, Kassi JN. 2020. Analyse systématique et phytogéographique de la forêt classée de Badénou (Korhogo, Côte d’ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **14**(9): 3159-3167. DOI: <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v14i9.15>
- Gesteiro E, Guijarro L, Sánchez-Muniz FJ, Vidal-Carou MDC, Troncoso A, Venanci L, Jimeno V, Quilez J, Anadón A, González-Gross M. 2019. Palm Oil on the Edge. *Nutrients*, **11**(9): 2008. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11092008>
- Gogbe DBF, Konan JN, Diabate S, Konan EP, Kone B, Dogbo DO. 2016. Réaction phénolique de 4 clones de palmiers à huile inoculés par *Fusarium oxysporum* f. sp. *Elaeidis*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(2): 486-496. DOI: <http://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i2.3>
- Hong HC, Hwang SY, Choi HY, Yoo HJ, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Baik SH, Choi DS, Choi KM. 2014. Relationship between sarcopenia and nonalcoholic fatty liver disease: the Korean Sarcopenic Obesity Study. *Hepatology*, **59**(5): 1772–1778. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.26716>
- HU Z, Wang H, Lee H. 2010. PTEN Inhibition Improves Muscle Regeneration in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*, **59**(6): 1312-1320. DOI: <https://doi.org/10.2337/db09-1155>.
- Karstoft K, Pedersen BK. 2016. Skeletal muscle as a gene regulatory endocrine organ. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **19**(4): 270-275. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000283>
- Kuang S, Kuroda K, Le Grand F, Rudnicki MA. 2007. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell*, **129**(5):999–1010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.044>
- Kusminski CM, Shetty S, Orci L, Unger RH, Scherer PE. 2009. Diabetes and apoptosis: lipotoxicity. *Apoptosis*, **14**(12): 1484-95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10495-009-0352-8>
- Lipina C, Hundal H S. 2017. Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, **8**(2): 190-201. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12144>
- Machado L, Esteves de Lima J, Fabre O, Proux C, Legendre R, Szegedi A, Varet H, Ingerslev LR, Barres R, Relaix F, Mourikis P. 2017. *In situ* fixation redefines quiescence and early activation of skeletal muscle stem cells. *Cell. Rep.*, **21**(7): 1982-1993. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.080>
- Mackey AL, Kjaer M. 2017. The breaking and making of healthy adult human skeletal muscle *in vivo*. *Skelet Muscle*, **7**(1): 24. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13395-017-0142-x>
- Marangoni F, Galli C, Ghiselli A, Lercker G, La Vecchia C, Maffei C, Agostoni C, Ballardini D, Brignoli O, Faggiano PGiacco R, Macca C, Magni P, Marelli G, Marrocco W, Miniello VL, Mureddu GF, Pellegrini N, Stella R, Troiano E, Verduci E, Volpe R, Poli A. 2017. Palm oil and human health. Meeting report of NFI: Nutrition Foundation of Italy symposium. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **68**(6): 643-655. DOI: <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1278431>
- Milić S, Lulić D, Štimac, D. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J. Gastroenterol.*, **20**(28): 9330-9337. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i28.9330>

- Monde AA, Moundounga J-C, Camara-Cisse M, Gauze-Gnagne-Agnero C, Nguetta R, Fogha D, Tiahou G. 2019. Connaissance, attitudes et pratiques sur les valeurs nutritionnelles de l'huile de palme chez le personnel médical et paramédical de l'Institut de cardiologie d'Abidjan. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **13**(4): 1969-1979. DOI: <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i4.5>
- Rasool S, Geetha T, Broderick TL, Babu JR. 2018. High fat with high sucrose diet leads to obesity and induces myodegeneration. *Front. Physiol.*, **9**: 1054. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01054>
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee and reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, **123**(11): 1939-51. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>
- Rocha-Rodrigues S, Rodriguez A, Gouveia AM, Goncalves IO, Becerril S, Ramirez B, Beleza J, Frühbeck G, Ascensão A, Malgalhães J. 2015. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sci.*, **165**: 100-108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.023>
- Rojas-Ríos P, González-Reyes A. 2014. Concise Review: The plasticity of Stem Cell Niches: A General Property Behind Tissue Homeostasis and Repair. *Stem Cells*, **32**(4): 852-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.1621>
- Scionti I, Hayashi S, Mouradian S. 2017. LSD1 Controls Timely MyoD Expression via MyoD Core Enhancer Transcription. *Cell. Report.*, **18**(8):1996-2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.01.078>
- Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song IS, Kim N, Bang HS, Rhee BD, Ko KS, Park BJ, Han J. 2014. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. *Nutr. Res. Pract.*, **8**(2):177-182. DOI: <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.2.177>
- Soleimani VD, Punch VG, Kawabe Y, Jones AE, Palidwor GA, Porter CJ, Cross JW, Carvajal JJ, Kockx CE, van IJcken WF, Perkins TJ, Rigby PW, Grosveld F, Rudnicki MA. 2012. Transcriptional dominance of pax7 in adult myogenesis is due to high-affinity recognition of homeodomain motifs. *Dev. Cell.*, **22**(6): 1208–1220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2012.03.014>
- Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, Cheng PF, Weintraub H, Lassar AB. 1988. MyoD1: a nuclear phosphoprotein requiring a Myc homology region to convert fibroblast to myoblast. *Science*, **242**(4877):405-11. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.3175662>
- Turpin SM, Ryall JG, Southgate R, Darby I, Hevener AL, Febbraio MA, Kemp BE, Lynch GS, Watt MJ. 2009. Examination of “lipotoxicity” in skeletal muscle of high fat diet fed and ob/ob mice. *J Physiol*, **587**(7): 1593-1605. DOI: <https://doi.org/10.1113/physiol.2008.166033>
- Vignaud A, Ramond F, Hourdé C, Keller A, Butler-Browne G, Ferry A. 2007. Diabetes provides an unfavorable environment for muscle mass and function after muscle injury in mice. *Pathobiology*, **74**(5): 291–300. DOI: <https://doi.org/10.1159/000105812>
- Woodworth-Hobbs ME, Hudson MB, Rahnert JA, Zheng B, Franch HA, Price SR. 2014. Docosahexaenoic acid prevents palmitate-induced activation of proteolytic systems in C2C12 myotubes. *J. Nutr. Biochem.*, **25**(8) : 868-874. DOI: <https://doi.org/101016/j.jnutbio.2014.03.017>