THESE DE DOCTORAT

DE
LE MANS UNIVERSITE
SOUS LE SCEAU DE
LA COMUE ANGERS – LE MANS

ECOLE DOCTORALE N° 642
Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement
Spécialité : Biochimie, Biologie Moléculaire et Cellulaire

Par
Jordi Vignaud

Effet d'un extrait de spiruline sur le métabolisme musculaire et hépatique chez le rat mâle Wistar soumis à un régime hyperlipidique et à un entraînement en endurance

Thèse présentée et soutenue à Laval, le 26 septembre 2025
Unité de recherche : Biologie des Organismes, Stress, Santé, Environnement (BiOSSE)
Thèse N° : 2025LEMA1018

Rapporteurs avant soutenance :

Nathalie Boisseau	Professeure, Université Clermont Auvergne
Carole Groussard	Professeure, Université de Rennes 2

Composition du Jury :

Examinateurs :	Christine Feillet-Coudray	Directrice de Recherche, INRAE de Montpellier
	Khadija Ouguerram	Professeure, Université de Nantes
	Nicolas Peyrot	Professeur, Le Mans Université
Directeur de thèse :	Lionel Ulmann	Professeur, Le Mans Université
Co-encadrante :	Céline Loiseau	Maitre de Conférences, Le Mans Université

Invité :

Olivier Lépine	Directeur scientifique et technique, AlgoSource

Remerciements

Pour commencer, je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse en tant que rapporteurs et examinateurs.

Je remercie mon directeur et ma directrice de thèse, Lionel et Céline, de m'avoir accepté en thèse au sein de leur équipe, ainsi que pour la confiance qu'ils m'ont accordée dans la conduite de ce projet. Lionel, merci pour ton accompagnement, les nombreuses discussions, les petites blagues et ton professionnalisme. Céline, je te remercie de m'avoir permis d'encadrer des stagiaires, pour ton implication dans les discussions et ton aide méthodologique.

Merci à l'ensemble des collègues ayant participé, de près ou de loin, à ce projet. Merci à Fred, Claire, Josy et Isabelle pour les heures passées à l'animalerie et votre bonne humeur.

Mention spéciale à Martine, le pilier du laboratoire, pour ton aide précieuse et tes explications. Un bonheur de travailler avec toi. Au-delà de cela, tu as été un soutien moral, toujours positive et pleine de vie, toujours partante pour rigoler et passer un bon moment. Merci !

Merci au personnel de l'IUT de m'avoir soutenu dans les tâches administratives et techniques, ou tout simplement pour la bonne humeur lorsqu'on se croisait.

Merci également à l'ensemble des enseignants, toujours bienveillants, donneurs de bons conseils, ou simplement disponibles pour discuter. Mention spéciale à Lucile et Bénédicte, qui m'ont permis d'enseigner dans leurs matières, une superbe expérience que j'ai tout simplement adorée.

Je vais faire la transition amis collègues en parlant du Dr Murison, un exemple et un grand homme rempli de sagesse. Merci de m'avoir accueilli, aidé, et pour les discussions scientifiques partagées et nos petits délires dans le bureau 😊. Merci pour les soirées passées ensemble, ou encore au bout d'une corde d'escalade dans cette bonne vieille salle du Gral.

Dans le même bureau, je cite à la barre Elisa, une collègue et amie également, remplie d'énergie et de motivation. J'espère ne pas t'avoir fait trop peur et que tu as réussi à t'intégrer parfaitement dans le bureau 😊. Merci d'être toi-même, toujours de bonne humeur, adepte des potins ; avec Philomène, vous formez une belle équipe.

Au-delà du labo, tu vis avec Antoine, un charmant jeune homme à la grosse moto. Merci pour les soirées et les bons moments passés ensemble.

Merci à Chloé, Elise et Rova qui m'ont aidé dans les manips. Ce fut un plaisir de vous encadrer, avec votre bonne humeur et votre détermination sans faille.

Merci Martin pour ta bonne humeur et ton style de citadin. Ravi de pouvoir se retrouver de temps en temps autour d'un verre dans le Sud !

Je tiens également à remercier tous les collègues du CERIUM côté informatique : Hamza, Bérénice, Vincent, Nail, Mamoudou, Valériane, Thierry, Oussama et Sébastian, pour les moments de partage entre les murs du CERIUM, mais aussi à l'extérieur pour un match de football. J'espère ne pas trop vous avoir harcelé avec le journal club (j'attends toujours qu'Hamza présente, mais bon… il préfère se marier visiblement !).
Merci à mes amis Rougé et Saint-Martin, la triplette gagnante du lycée, on en a parcouru du chemin ensemble et ça va continuer. Je pense que STM ne se remet toujours pas du fait que j'ai fait un doctorat (les profs du collège et du lycée non plus d'ailleurs).
Merci à tous mes amis qui ont écouté mes histoires de thèse de près ou de loin : Gaël, Raf, Melvyn, Gaby, Maëlle, Vincent et Lucie.
Je tiens à remercier les rencontres faites lors de mon stage de Master 2, qui m'ont poussé et motivé à faire une thèse : merci à Mégan, Elisa, Hugo, Jérémy, Mathieu, Émilie et Christine. Très heureux qu'encore aujourd'hui, nous puissions partager de bons moments hors laboratoire.
Merci aux rencontres que j'ai faites à Laval, les gens du Nord : Pierre-Alexandre, Thomas, Romu, Soso, Laurène, Gilles et Lucas qui m'ont accompagné et fait vivre des moments inoubliables au cours de ces 3 années, que ce soit autour d'une corde, d'un barbecue ou d'une bière.
Merci aussi à toutes les rencontres faites au club d'escalade du Gral, pour leur bonne humeur et la bonne grimpe.
Et enfin, je remercie ma famille. Tout d'abord mes frères, Lorris et Athaïs, qui ont toujours répondu présents pour écouter mes histoires tout au long de mes 8 années d'études. On forme une belle fratrie, soudée et complice. Merci les frérots. Merci à mes parents pour votre soutien indescriptible que vous m'avez toujours donné, et d'être toujours là, peu importe la situation. Vous avez su m'écouter et me conseiller, même si ce n'est pas toujours facile de me suivre ! Merci à mes grands-parents d'avoir toujours cherché à comprendre ce que je faisais, et pour leur soutien permanent tout au long de mes études.
Et enfin, la meilleure pour la fin, comme on dit. Merci Elodie, l'amour qui partage à présent ma vie, pour tout ce que tu m'as apporté et appris. Et dire qu'à une époque, c'était moi qui te montrais comment fonctionnait le labo à PhyMedExp… Ça a rapidement changé ! Merci, tout simplement, d'être toi, de me soutenir chaque jour dans mes idées farfelues et pour la confiance que tu m'as donnée.
Je nous souhaite le meilleur pour la suite de nos projets personnels et professionnels. Mention spéciale à nos loulous : Kora, et dans une moindre mesure, Titi.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des publications et communications

I. Introduction générale 17

II. Revue bibliographique 23

1. Le muscle strié squelettique 24

1.1. La structure du muscle strié squelettique 25

1.2. Innervation du muscle strié squelettique 27

1.3. Les différents types de fibres musculaires 28

1.4. Métabolisme énergétique dans le muscle strié squelettique 31

1.4.1. Le rôle de l'énergie dans le cycle d'une contraction 31

1.4.2. La production d'ATP anaérobie 34

1.4.2.1. La créatine phosphate 34

1.4.2.2. La glycolyse 35

1.4.2.3. Le lactate, un produit controversé 37

1.4.3. La production d'ATP aérobie 38

1.4.3.1. La mitochondrie : anatomie et fonctions d'un organite dynamique 38

1.4.3.2. Oxydation du glucose 40

1.4.3.3. Oxydation des acides gras 41

1.4.3.4. Cycle de Randle 44

1.4.3.5. Cycle de Krebs 46

1.4.3.6. La phosphorylation oxydative 47

1.4.3.7. Mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation des voies énergétiques 49

1.4.4. Stockage des substrats énergétiques impliqués dans la production d'énergie 50

1.4.5. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote 55

1.4.6. Systèmes antioxydants des espèces réactives 58

2. Les fonctions hépatiques 61

2.1. Métabolisme des glucides hépatiques 62

2.1.1. Régulation de la production hépatique de glucose en état de jeûne 63

2.1.2. Transition métabolique en phase postprandiale 65

2.2. Métabolisme des lipides hépatiques 67

2.2.1. Les lipoprotéines plasmatiques 68

2.2.2. La lipolyse hépatique durant une période de jeûne 70

2.2.2.1. Mécanisme de captation et oxydation des acides gras par le foie 70
2.2.2.2. La peroxydation lipidique 73
2.2.3. La lipogenèse *de novo* hépatique postprandiale....75
2.2.3.1. Impact des glucides alimentaires sur la lipogenèse hépatique et le métabolisme des triglycérides 77
2.2.4. Synthèse des acides gras dans le métabolisme hépatique 78
2.2.5. Rôles et structures des phospholipides et des lipides neutres 80
3. L'obésité 81
3.1. Définition 81
3.2. Impact de l'obésité sur la santé et la mortalité 82
3.3. Prévalence de l'obésité dans le monde et en France 82
3.4. Influence de l'alimentation sur l'obésité 83
3.5. L'obésité chez les adolescents : une problématique croissante....85
3.6. Le surpoids induit par un excès de masse grasse corporelle 85
3.6.1. Les types de tissus adipeux et leurs rôles métaboliques....86
3.6.2. Dysfonctionnement du tissu adipeux blanc et inflammation chronique dans l'obésité 87
3.6.3. La lipotoxicité hépatique et impact métabolique 88
3.6.3.1. La stéatose hépatique....89
3.6.3.2. Autres conséquences métaboliques de l'obésité 90
3.6.4. Régulation des gènes hépatiques impliqués dans synthèse des acides gras au cours de l'obésité 92
3.7. Impact de l'obésité sur le muscle strié squelettique 94
3.7.1. Rôle du stress oxydatif sur la fonction endothéliale vasculaire précédant l'obésité 94
3.7.2. Rôle des acides gras dans le développement de la résistance à l'insuline et l'altération du métabolisme glucidique 95
3.7.3. Altérations du métabolisme lipidique dans le muscle squelettique 100
4. L'entraînement en endurance 104
4.1. Définition 104
4.2. Impact de l'entraînement en endurance sur le muscle squelettique....106
4.2.1. Modifications de la balance protéique....106
4.2.2. Adaptations phénotypiques des fibres musculaires 109
Effets de l'entraînement aérobie sur le métabolisme énergétique et les adaptations musculaires associées 111
4.2.3. 111
4.2.3.1. Activation de l'AMPK et de la biogénèse mitochondriale....111
4.2.3.2. Oxydation du glucose et stockage 112
4.2.3.3. Oxydation des lipides et stockage 113

4.2.4. Influence de l'entraînement d'endurance sur la synthèse des acides gras hépatique 116
4.3. Effets thérapeutiques de l'entraînement en endurance sur l'obésité et les troubles métaboliques associés 117
4.4. Développement, croissance et adaptations métaboliques chez le jeune rat 120
4.4.1. Développement et croissance de l'organisme 120
4.4.2. Phases de croissance et métabolisme énergétique chez le jeune rat 121
4.4.3. Effets d'un régime riche en lipides chez le jeune rat 122
4.4.4. Réponse à l'entraînement physique et évolution du statut rédox avec l'âge 123

5. La nutrition 125

5.1. Un facteur d'intérêt associé à l'entraînement en endurance pour lutter contre l'obésité 125
5.2. Les compléments alimentaires issus de microalgues : une stratégie d'intérêt 126
5.2.1. Le rôle du microbiote intestinal dans le métabolisme : interactions avec le foie et le muscle 127
5.2.2. Les microalgues et la phcocyanine comme modulateurs du microbiote et de l'inflammation 129
5.2.3. Les effets des microalgues sur l'obésité : potentiel des extraits bioactifs dans la gestion du poids corporel 130
5.2.4. Les compléments alimentaires issus de microalgues pour améliorer la performance d'endurance 132
5.3. La cyanobactérie : Arthrospira platensis 135
5.3.1. Présentation de la spiruline 135
5.3.2. La spiruline : une source de protéines et de phycocyanines avec des propriétés industrielles et thérapeutiques d'intérêt 136
5.4. Effet de la phycocyanine sur l'obésité et les adaptations à l'entraînement aérobie 137
5.4.1. Effet sur l'obésité 139
5.4.1. Effets sur l'entraînement en endurance 142
5.5. Le Spirulysat® un complément alimentaire d'intérêt 144

III. Objectifs de la thèse 147

IV. Matériels et méthodes 151

1. Expérimentation animale 152

1.1. Animaux 152
1.2. Régimes alimentaires et formation des groupes 152
1.3. Protocole d'entraînement en endurance et mesure de la vitesse maximale aérobie 157
1.4. Test de tolérance au glucose 160
1.5. Suivi nutritionnel et prélèvement des échantillons 160

2. Dosages plasmatiques 161

2.1. Profil lipidique 161
2.2. Glycémie, insulinémie et interleukine-6 plasmatique 163
3. Étude des lipides hépatiques 164
3.1. Extraction des lipides totaux 164
3.2. Dosage des triglycérides et cholestérol total 164
3.3. Séparation des lipides totaux 164
3.4. Obtention des esters méthyliques d'acides gras 165
3.5. Détermination des profils en acides gras 166
4. Dosage du malondialdéhyde hépatique et musculaire 166
5. Mesure d'expression génique dans les tissus 167
5.1. Extraction des ARN totaux 167
5.2. La transcription inverse 167
5.3. PCR quantitative 168
5.4. La conception des amorces 168
5.5. Test d'efficacité des amorces 170
5.6. Mesure de l'expression de gênes cibles 171
6. Traitement statistique des données 172
V. Résultats 173
1. Publication 1 : Combined effects of Spirulina liquid extract and endurance training on aerobic performance and muscle metabolism adaptation in Wistar rats (Nutrients, 17, 2025, 283, doi.org/10.3390/nu17020283). 174
2. Publication 2 : Spirulina liquid extract regulates gene expression related to glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in young male Wistar rats fed a high-fat diet *(Nutr. Res., en révision NTR-D-25-00190R1).* 201
3. Publication 3 : Combined effects of spirulina liquid extract and endurance training on hepatic triglycerides, SCD1, PPARα, and desaturase regulation in rats with high fat diet induced NAFLD (en préparation) 265
VI. Discussion et perspectives 293
1. Discussion générale 294
2. Perspectives 299
VII. Bibliographie 306
VIII. Annexe 1 341

Liste des figures

Figure 1: Structure générale du muscle strié squelettique 25
Figure 2 : Structure d'un sarcomère composant les myofibrilles 26
Figure 3: Description de la jonction neuromusculaire induisant la libération du calcium du réticulum sarcoplasmique vers le cytosol, déclenchant ainsi la contraction musculaire 27
Figure 4 : Description du cycle d'une contraction musculaire et le rôle de l'ATP..... 32
Figure 5: Principales voies métaboliques dans le muscle squelettique..... 33
Figure 6 : Métabolisme de la phosphocréatine dans le muscle squelettique..... 34
Figure 7 : Étapes de la glycolyse 36
Figure 8 : Structure générale d'une mitochondrie 39
Figure 9 : Métabolisme du glucose 40
Figure 10 : Représentation du passage des acides gras à longues chaines à travers les deux membranes mitochondriales 42
Figure 11 : La β-oxydation mitochondriale 43
Figure 12 : Cycle de Randle..... 44
Figure 13 : Cycle de Randle au niveau des transporteurs 45
Figure 14 : Représentation des huit étapes du cycle de Krebs..... 47
Figure 15 : La chaîne respiratoire 48
Figure 16 : Métabolisme du glycogène..... 50
Figure 17 : Exemple de formule chimique de trois acides gras (série n-3) et leurs nomenclatures 52
Figure 18 : Synthèse et hydrolyse des triglycérides à partir du glycérol et des acides gras 53
Figure 19 : Étape de la lipogenèse des triglycérides..... 54
Figure 20 : Production des espèces réactives de l'oxygène mitochondriales et enzymes anti-oxydantes 56
Figure 21 : Régulation des espèces réactives de l'oxygène. 59
Figure 22 : Circulation biliaire et sanguine hépatique (A) et organisation des hépatocytes (B) 61
Figure 23 : La gluconéogenèse hépatique..... 64
Figure 24 : Rôle de l'insuline et du glucagon dans la régulation de la glycémie 66
Figure 25 : Lipolyse et mécanismes de captation et d'oxydation des acides gras hépatiques. 72
Figure 26 : La lipoperoxydation enzymatique et non enzymatique..... 74

Figure 27 : La lipogenèse de novo hépatique 76
Figure 28 : Synthèse des acides gras hépatiques issus de la lipogenèse de novo et de l'alimentation 78
Figure 29 : Valeur de l'indice de masse corporelle et sa formule de calcul 81
Figure 30 : Corrélation entre la composition des apports caloriques journaliers et le pourcentage d'obésité 83
Figure 31 : Mécanisme du découplage mitochondrial 87
Figure 32 : Effets d'un régime riche en lipides (obésogène) sur les enzymes impliquées dans la synthèse des acides gras polyinsaturés. 92
Figure 33 : Mécanismes impliqués dans la résistance à l'insuline induite par les lipides dans le muscle squelettique. 97
Figure 34 : Comparaison du métabolisme basal du glucose dans le muscle squelettique chez des individus minces et obèses 100
Figure 35 : Balance protéique conduisant aux adaptations musculaires 108
Figure 36 : Régulation énergétique et biogenèse mitochondriale en réponse à l'exercice d'endurance 112
Figure 37 : Impact de l'exercice en endurance sur l'oxydation des substrats et l'adaptation métabolique 113
Figure 38 : Effet de l'entraînement en endurance sur la synthèse des acides gras hépatiques. 116
Figure 39 : Effet de l'entraînement en endurance sur l'obésité. 119
Figure 40 : Le microbiote et ses relations avec le muscle et le foie 127
Figure 41 : Vues en microscopie photonique de la spiruline 135
Figure 42 : Structure chimique de la phycocyanine 137
Figure 43 :Voie d'absorption métabolique de la phycocyanine 138
Figure 44 : Effets de la phycocyanine sur la performance physique et l'adaptation à l'exercice 143
Figure 45 : Configuration du tapis de course 158
Figure 46 : Représentation de la réaction de méthylation d'un triglycéride en ester de méthyl d'acide gras 165
Figure 47 : Détermination de l'efficacité des amorces des gènes de ménage par dilution 171

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des trois types de fibres musculaires squelettiques 29
Tableau 2 : Caractéristiques des différentes lipoprotéines..... 69
Tableau 3 : Caractéristiques et fonctions principales des apolipoprotéines..... 70
Tableau 4 : Comparaison des effets du régime riche en lipides et de l'obésité sur le métabolisme lipidique et la qualité mitochondriale dans le muscle squelettique..... 103
Tableau 5 : Synthèse des modalités d'exercice aérobie..... 105
Tableau 6 : Évolution de la croissance, du métabolisme et du statut rédox chez le jeune rat 124
Tableau 7 : Effets de la phycocyanine sur différents marqueurs biologiques et tissus..... 140
Tableau 8 : Effets de la phycocyanine sur le métabolisme, la sensibilité à l'insuline et la stéatose hépatique 141
Tableau 9 : Résumé des effets biologiques de la phycocyanine selon différents modèles.... 146
Tableau 10 : Répartition des groupes expérimentaux selon l'activité physique, le régime alimentaire et la supplémentation en SLE 153
Tableau 11 : Composition en nutriments (g/kg) des régimes standard (A04) et riche en lipides (HF260)..... 154
Tableau 12 : Composition relative en acides gras (% molaire) dans les régimes standard (A04) et riche en lipides (HF260) 155
Tableau 13 : Composition nutritionnelle du SLE 157
Tableau 14 : Planification hebdomadaire du protocole d'entraînement sur tapis roulant chez le rat 159
Tableau 15 : Couples d'amorces utilisés pour la qPCR..... 170

Liste des abréviations

4E-BP1 : eukaryotic translation initiation factor 4e-binding protein 1 (protéine de liaison au facteur d'initiation de la traduction 4e-1)

ACBP : acyl-CoA binding protein (protéine de liaison à l'acyl-CoA)

ACC : acétyl-CoA carboxylase

ADN : deoxyribonucleic acid (acide désoxyribonucléique)

ADP : adenosine diphosphate (adénosine diphosphate)

AGL : acides gras libres

AGMI : acides gras monoinsaturés

AGNE : acides gras non estérifiés

AGPI : acides gras polyinsaturés

ALA : alpha-linolenic acid (acide alpha-linolénique)

AMP : adenosine monophosphate (adénosine monophosphate)

AMPK : AMP-activated protein kinase (protéine kinase activée par l'AMP)

AIP : atherogenic index of plasma (indice athérogène plasmatique)

Akt : protein kinase b

ARA : arachidonic acid (acide arachidonique)

ARE : antioxidant response elements (éléments de réponse aux antioxydants)

ATG13 : autophagy related protein 13 (protéine 13 liée à l'autophagie)

ATP : adenosine triphosphate (adénosine triphosphate)

AUC : area under the curve (aire sous la courbe)

BAT : brown adipose tissue (tissu adipeux brun)

CAT : catalase

CaMK : calmodulin-dépendent kinase (kinase calmoduline-dépendante)

CaMKKβ : calmodulin-dependent protein kinase kinase β

CD36 : cluster of differentiation 36 (cluster de différenciation 36)

CK : creatine kinase (créatine kinase)

CPG : chromatographie en phase gazeuse

CPT1 : carnitine palmitoyltransferase 1 (carnitine palmitoyltransférase 1)

CPT2 : carnitine palmitoyltransferase 2 (carnitine palmitoyltransférase 2)

Ct : cycle threshold (seuil de cycle)

DHA : docosahexaenoic acid (acide docosahexaénoïque)

DNL : *de novo* lipogenesis (lipogenèse *de novo*)

EDL : extenseur des doigts (extensor digitorum longus)

EI : espace intermembranaire

Elovl : elongation of very long chain fatty acids (élongases des acides gras à chaîne très longue chaîne)

EMAG : fatty acid methyl esters (esters méthyliques d'acides gras)

EPA : eicosapentaenoic acid (acide eicosapentaénoïque)

ERA : espèces réactives de l'azote

ERO : espèces réactives de l'oxygène

ERK1/2 : extracellular signal-regulated kinases 1/2 (kinases régulées par les signaux extracellulaires 1 et 2)

Fabp4 : fatty acid binding protein 4 (protéine de liaison aux acides gras 4)

$FADH_2$: flavin adenine dinucleotide reduced (flavine adénine dinucléotide réduite)

FAS : fatty acid synthase (synthase des acides gras)

FAT : fatty acid translocase (translocase des acides gras)

FATP : fatty acid transport proteins (protéines de transport des acides gras)

FADS1 : fatty acid desaturase 1 (Δ5 désaturase)

FADS2 : fatty acid desaturase 2 (Δ6 désaturase)

FIP200 : fak family-interacting protein of 200 kda (protéine interagissant avec la famille fak de 200 kda)

FXR : farnesoid X receptor

GLUT4 : glucose transporter type 4 (transporteur de glucose de type 4)

GPx : glutathione peroxidase (glutathion peroxydase)

GSH : reduced glutathione (glutathion réduit)

GSSG : oxidized glutathione (glutathion oxydé)

GTT : glucose tolerance test (test de tolérance au glucose)

Gys1 : glycogene synthase (glycogène synthase)

HDL : high-density lipoprotein (lipoprotéines de haute densité)

HFHS : high fat high sugar diet (régime alimentaire riche en lipides et en sucres)

HNE : 4-hydroxy-2-nonenal (4-hydroxy-2-nonénal)

IDL : intermediate-density lipoproteins (lipoprotéines de densité intermédiaire)

IL-6 : interleukin-6 (interleukine-6)

IGF-1 : insulin-like growth factor 1 (facteur de croissance analogue à l'insuline 1)

IMC : indice de masse corporelle

IMTG : intramuscular triglycerides (triglycérides intramusculaires)

IRS1 : insulin receptor substrate 1 (substrat du récepteur à l'insuline 1)

JNM : jonction neuromusculaire

Keap1 : kelch-like ECH-associated protein 1

LDL : low density lipoprotein (lipoprotéines de faible densité)

LT : lipides totaux

M1 ou M2 : macrophage 1 ou 2

MAPK : mitogen-activated protein kinase (kinase activée par les mitogènes)

MDA : malondialdehyde (malondialdéhyde)

ME : membrane externe

MI : membrane interne

mTOR : mammalian target of rapamycin (cible mammalienne de la rapamycine)

NAFLD : non-alcoholic fatty liver disease (stéatose hépatique non alcoolique)

NAD^+ : nicotinamide adenine dinucleotide oxidized (nicotinamide adénine dinucléotide oxydée)

NADH : nicotinamide adenine dinucleotide reduced (nicotinamide adénine dinucléotide réduite)

NO : oxyde nitrique

Nrf1 : nuclear factor erythroid 2-related factor 1 (facteur nucléaire érythroïde 1 lié au facteur 2)

Nrf2 : nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (facteur nucléaire érythroïde 2 lié au facteur 2)

OMS : organisation mondiale de la santé

P70S6 : ribosomal protein s6 kinase beta-1 (protéine kinase p70s6)

p38 MAPK : p38 mitogen-activated protein kinase (protéine kinase activée par les mitogènes p38)

PC : cyano-phycocyanine

PCr : phosphocreatine (phosphocréatine)

PDH : pyruvate deshydrogenase (pyruvate déshydrogénase)

PEPCK : phosphoenolpyruvate carboxykinase (phosphoénolpyruvate carboxykinase)

PGC1α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (coactivateur 1-alpha du récepteur activé par les prolifférateurs de peroxysomes gamma)

Pi ; phosphate inorganique

PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase

PL : phospholipides

PPAR : peroxisome proliferator-activated receptor (récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes)

qPCR : quantitative polymerase chain reaction (pcr quantitative)

Rac1 : ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (substrat C3 de la toxine botulinique apparenté à Ras 1)

Rheb : ras homolog enriched in brain (ras enrichie dans le cerveau)

SCD1 : stearoyl-CoA desaturase 1 (stéaroyl-coA désaturase-1)

SEM : standard error of the mean (erreur standard de la moyenne)

SLE : spirulysat® or Spirulina liquid extract (spirulysat® ou extrait liquide de spiruline)

SREBP-1c : sterol regulatory element-binding protein 1c (protéine liant l'élément régulateur des stérols 1c)

SOD : superoxide dismutase (superoxyde dismutase)

SOL : soléaire

TBARS : thiobarbituric acid reactive substances (substances réactives au thiobarbiturique)

TG : triglycérides

TGR5 : takeda G protein-coupled receptor 5

TNF-α : tumor necrosis factor alpha (facteur de nécrose tumorale alpha)

TSC1/TSC2 : tuberous sclerosis complex 1/2 (complexe de sclérose tubéreuse)

UCP : uncoupling protein (protéine découplante)

ULK : unc-51 like kinase (kinase de type unc-51)

UPS : ubiquitin-proteasome system (système ubiquitine-protéasome)

VDAC : voltage-dependent anion channel (canal anionique dépendant du voltage)

VLDL : very low-density lipoprotein (lipoprotéines de très basse densité)

VMA : vitesse maximale aérobie

VO_2max : consommation maximale d'oxygène ou volume d'oxygène consommé

WAT : white adipose tissue (tissu adipeux blanc)

Liste des publications et communications

- Microalgae produce antioxidant molecules with potential preventive effects on mitochondrial functions and skeletal muscular oxidative stress (Vignaud J., Loiseau C., Hérault J. Mayer C., Côme M., Martin I., Ulmann L. Antioxidants *2023,* 12*(5), 1050; https://doi.org/10.3390/antiox12051050*)

- Combined effects of Spirulina liquid extract and endurance training on aerobic performance and muscle metabolism adaptation in Wistar rats (Vignaud J., Loiseau C., Côme M., Hérault J., Mayer C., Lépine O., Ulmann L. *Nutrients, 17, 2025, 283, doi.org/10.3390/nu17020283).*

- Spirulina liquid extract regulates gene expression related to glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in young male Wistar rats fed a high-fat diet (Vignaud J., Loiseau C., Côme M., Hérault J., Mayer C., Lépine O., Ulmann L. *Nutr. Res., en révision NTR-D-25-00190R1).*

- Combined effects of spirulina liquid extract and endurance training on hepatic triglycerides, SCD1, PPARα, and desaturase regulation in rats with high fat diet induced NAFLD (*en préparation*)

- Nutritional effects of Spirulina liquid extract on plasma parameters and fatty acid and glucose liver metabolisms in sedentary and moderate running male Wistar rats (Vignaud J., Loiseau C., Côme M., Martin I., Hérault J., Mayer C., Lépine O., Ulmann L. *23rd IUNS-ICN International Congress of Nutrition, Paris, Août 2025*)

I. Introduction générale

Au cours des dernières années, la recherche clinique et préclinique s'est intensifiée afin d'identifier des stratégies efficaces pour lutter contre les maladies métaboliques. Ces pathologies sont en constante augmentation dans nos sociétés modernes, en grande partie en raison de facteurs multiples : individuels, environnementaux, biologiques et socioéconomiques. Parallèlement, la sédentarité progresse également, sous l'influence de facteurs personnels, sociaux, technologiques et environnementaux (Park et al., 2020; Spătărelu and Popa, 2021).

Adapter les habitudes alimentaires et pratiquer une activité physique constituent des éléments majeurs dans la prévention des maladies métaboliques (Ambroselli et al., 2023; Meldrum et al., 2017; Zhang et al., 2023). Toutefois, ces interventions peuvent s'avérer insuffisantes pour remédier à ces pathologies.

Dans ce contexte, l'utilisation de compléments alimentaires d'origine naturelle et non médicamenteuse a émergé comme une stratégie prometteuse (M. Kumar et al., 2022; Martínez-Augustin et al., 2012). Parmi eux, les microalgues suscitent un intérêt croissant, en raison de leur richesse en molécules bioactives (Eze et al., 2023). Celles-ci font actuellement l'objet d'évaluations scientifiques approfondies pour déterminer leur potentiel à des fins thérapeutiques non médicamenteuses chez l'Homme.

Parmi les maladies métaboliques, l'obésité se caractérise par une augmentation importante de la masse grasse corporelle et de troubles du métabolisme énergétique au niveau du tissu adipeux, du muscle squelettique, et du foie (Goossens, 2017). De plus, l'obésité affecte de plus en plus des populations jeunes. Des travaux antérieurs ont pu démontré que, chez les adolescents, la pratique quotidienne d'environ 45 minutes d'activité physique d'intensité modérée, mesurée par accélérométrie, pouvait être associée à une diminution du risque de développer une obésité (Kwon et al., 2015). C'est pourquoi le manque d'activité physique, qu'il s'agisse d'activités de loisir, domestiques ou professionnelles, ainsi que les comportements sédentaires, pouvant être définis comme le temps passé en position assise ou allongée avec une dépense énergétique très faible, font partie de facteurs importants à prendre en compte durant l'adolescence pour prévenir des troubles tels que l'obésité. L'essor des technologies ne sollicitant que très peu l'activité musculaire, associé à une augmentation du temps passé en position sédentaire (écrans, transports passifs), peut aussi contribuer à l'émergence d'un environnement obésogène et inactif (Pearson et al., 2014). Dans ce contexte, l'activité physique demeure la stratégie la plus efficace pour prévenir et maintenir une activité du métabolisme énergétique et donc protéger de l'obésité (Must and Tybor, 2005).

Le muscle squelettique constitue un site majeur de stockage et d'oxydation des substrats énergétiques tels que le glucose et les lipides, participant activement au maintien de

l'homéostasie énergétique. En revanche, un déséquilibre alimentaire conduit généralement à des altérations entre l'utilisation de ces substrats à l'origine de dérèglements systémiques généraux. De même, le foie, organe clé dans la régulation du métabolisme, peut être affecté par les dérèglements nutritionnels, menant à une accumulation de lipides (stéatose hépatique) et à une altération de ses fonctions physiologiques.

L'entraînement en endurance s'impose aujourd'hui comme une stratégie thérapeutique non médicamenteuse reconnue pour sa capacité à contrer les altérations métaboliques associées à des pathologies telles que l'obésité. En effet, l'exercice physique améliore les voies bioénergétiques, régule le stress oxydatif et optimise la composition corporelle (Meo et al., 2017). Cependant, pour en maximiser les bénéfices, il est essentiel de l'associer à une alimentation adaptée. La consommation d'aliments frais et de qualité est primordiale afin de préserver la valeur nutritionnelle des nutriments et des molécules bioactives qu'ils contiennent. Cette qualité est souvent altérée ou perdue, dans les produits ultra-transformés ou industriels (Cornwell et al., 2018). De plus, bien que les aliments naturels contiennent des molécules bioactives comme les oméga-3 ou des molécules antioxydantes telles que le resvératrol ou la curcumine, leurs concentrations sont généralement trop faibles pour induire des effets physiologiques rapides et marqués. C'est pourquoi l'intérêt pour les compléments alimentaires a considérablement augmenté ces dernières années. Leur production, à partir d'origines naturelles terrestres (plantes) ou marines (microalgues), suscite un fort intérêt en tant que sources potentielles de molécules bioactives pour lutter contre les maladies métaboliques. Ces compléments enrichis en molécules bioactives, souvent issus d'extraits naturels, pourraient potentialiser les effets de l'entraînement physique et participer à la restauration ou au maintien du métabolisme énergétique dans le contexte de l'obésité, bien que ces effets restent encore à confirmer.

Parmi les microalgues d'intérêt, la spiruline, une cyanobactérie photosynthétique, a émergé comme une source majeure de protéines, de lipides polyinsaturés, de vitamines et de pigments bioactifs, lui conférant un fort potentiel nutraceutique. Certaines études ont évalué les effets de la biomasse de spiruline sur la capacité physique et ont rapporté qu'elle pourrait présenter des effets ergogéniques. En effet, il a été suggéré que la spiruline favoriserait l'oxydation des graisses, substrat clé au cours d'activités de moyenne intensité, et qu'elle pourrait également améliorer le profil antioxydant, contribuant ainsi à une récupération musculaire plus efficiente (Kalafati et al., 2010; Lu et al., 2006). Parmi les composants de la spiruline, la cyano-phycocyanine (PC), un pigment bleu protéique représentant entre 10 et 20 % de sa biomasse, a suscité un intérêt particulier pour la production de compléments alimentaires. Le Spirulysat®

(extrait liquide de spiruline, SLE), riche en PC, a émergé comme un complément alimentaire prometteur. En effet, la PC a démontré des effets antioxydants susceptibles de contribuer à l'amélioration du métabolisme énergétique (Puengpan et al., 2024). Cependant, l'évaluation spécifique des effets de cette molécule doit encore être étudié dans différents contextes.

Dans cette perspective, le premier objectif de cette thèse est d'évaluer l'efficacité du SLE dans un contexte de performance physique, au cours d'un régime alimentaire standard, chez le jeune rat mâle Wistar. En s'appuyant sur les effets déjà rapportés de la spiruline, il est attendu que le SLE puisse améliorer les capacités physiques des animaux grâce à des adaptations musculaires optimisées.

En utilisant le même modèle animal expérimental, le deuxième objectif s'inscrit dans l'évaluation du SLE comme moyen de prévention du développement d'une obésité induite par une alimentation riche en lipides. Il vise également à examiner les effets du SLE combiné à un entraînement en endurance dans une optique de prévention chez des rats jeunes et en croissance. Cet objectif repose sur deux hypothèses :

- le SLE et l'entraînement préviendraient l'installation d'une hyperglycémie et de troubles du métabolisme énergétique dans le muscle squelettique,
- sur le plan du métabolisme lipidique hépatique, la combinaison des deux conditions permettrait de limiter le développement d'une stéatose hépatique induite.

L'ensemble de ces travaux pourra ainsi contribuer à enrichir une littérature encore limitée sur le sujet, en précisant les effets du pigment majeur de la spiruline, la PC, potentiellement à l'origine de certains bénéfices attribués à la spiruline et en explorant sa combinaison avec l'exercice physique afin de potentialiser les effets.

Ce manuscrit, structuré en trois grandes parties, suivies d'une discussion générale, propose d'évaluer l'efficacité du Spirulysat® dans des conditions d'entraînement en endurance et d'obésité.

La première partie est une synthèse bibliographique divisée en cinq sections :

- La première section explore le muscle strié squelettique, en abordant sa structure, son innervation, les différents types de fibres, ainsi que les voies de production d'énergie en conditions aérobies et anaérobies. Elle détaille aussi le rôle des mitochondries, le stockage des substrats énergétiques et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO).
- La deuxième section traite des fonctions métaboliques du foie, en particulier du métabolisme des glucides et des lipides, selon les états nutritionnels (jeûne ou

postprandial). Elle aborde également la synthèse et l'oxydation des acides gras, ainsi que le rôle des lipides complexes.

- La troisième section s'intéresse à l'obésité, en décrivant ses effets sur la santé, sa prévalence croissante (notamment chez les jeunes) et le rôle de l'alimentation. Elle analyse aussi les altérations du tissu adipeux, les effets de l'obésité sur le foie et les muscles squelettiques, ainsi que le développement de la résistance à l'insuline.
- La quatrième section est consacrée à l'entraînement en endurance, en mettant en évidence ses effets bénéfiques sur le muscle squelettique, le métabolisme énergétique et ses intérêts thérapeutiques contre l'obésité.
- Enfin, la cinquième section explore le rôle de la nutrition, en particulier les compléments alimentaires issus de microalgues comme la spiruline. L'accent est mis sur les effets de la PC sur la régulation du poids corporel et l'amélioration de la performance d'endurance. Le Spirulysat®, un extrait spécifique riche en PC, y est présenté comme un complément alimentaire prometteur.

La deuxième partie décrit les matériels et méthodes utilisés dans les différentes démarches expérimentales menées au cours de ce travail.

La troisième partie présente les résultats expérimentaux sous la forme de trois articles scientifiques : le premier publié, le second soumis, et le troisième en préparation. Chaque article est précédé d'une contextualisation et d'un résumé des résultats.

Enfin, ce manuscrit se termine par une discussion générale, proposant une analyse globale des résultats obtenus et ouvrant sur des perspectives de recherche futures.

II. Revue bibliographique

1. Le muscle strié squelettique

Chez les vertébrés, le système musculaire relie les os *via* les tendons et permet la production et la transmission de force, essentielles au mouvement. Le muscle squelettique est l'un des tissus les plus dynamiques et adaptatifs du corps humain. Chez l'Homme, il représente environ 40 % du poids corporel total, contient 50 à 75 % des protéines de l'organisme et contribue à 30 à 50 % du renouvellement protéique global. Il est principalement composé d'eau (75 %), de protéines (20 %) et d'autres éléments tels que des sels inorganiques, des minéraux, des lipides et des glucides (5 %). La masse musculaire résulte d'un équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines, des processus influencés par divers facteurs comme l'alimentation, l'équilibre hormonal, l'activité physique, les blessures et les maladies. Le muscle squelettique remplit plusieurs fonctions essentielles. D'un point de vue mécanique, il convertit l'énergie chimique sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) en énergie mécanique afin de produire de la force et de la puissance musculaire, permettant le maintien de la posture et le mouvement. D'un point de vue métabolique, il contribue au métabolisme basal en constituant une réserve de substrats tels que les lipides et les glucides. Il génère également de la chaleur pour réguler la température corporelle et consomme de l'oxygène ainsi que ces substrats énergétiques, nécessaires à la production d'énergie lors de l'activité physique. Parmi ses différentes rôles, il constitue un réservoir d'acides aminés capable d'approvisionner d'autres organes comme la peau, le cerveau et le cœur pour la synthèse de protéines spécifiques (Frontera and Ochala, 2015). Les muscles striés squelettiques sont composés de fibres musculaires longues et cylindriques, où les cellules sont plurinucléées, avec des noyaux situés en périphérie des myofibrilles. Leur taille moyenne est d'environ 10 µm (Roman and Gomes, 2018). Ces muscles sont contrôlés par le système nerveux périphérique, ce qui permet les mouvements volontaires du corps. Un mouvement rectiligne (trajectoire en ligne droite) peut être généré par une réponse musculaire simple, tandis qu'un mouvement circulaire, plus complexe, nécessite une réponse synergique impliquant plusieurs muscles (Lu and Chang, 2012). En outre, certains groupes musculaires participent à des actions passives telles que le maintien de la posture ou la stabilisation des articulations, des fonctions essentielles pour assurer une position stable du corps dans l'espace (Lu and Chang, 2012). L'ensemble de ces mouvements est permis par une structure musculaire spécifique qui s'agence en plusieurs couches.

1.1. La structure du muscle strié squelettique

Le muscle possède une structure particulièrement rigide et organisée. Chaque extrémité du muscle est reliée à un tendon, lui-même ancré dans la première couche musculaire appelée épimysium (**Figure 1**). Ce tissu conjonctif épais entoure l'ensemble du muscle, le protégeant des frottements avec d'autres tissus, tels que le tissu adipeux ou l'os (Listrat et al., 2016). Sous l'épimysium, se trouve une seconde couche appelée périmysium, qui enveloppe les faisceaux de fibres musculaires (**Figure 1**). Enfin, la dernière couche, appelée endomysium, entoure individuellement chaque fibre musculaire (**Figure 1**).

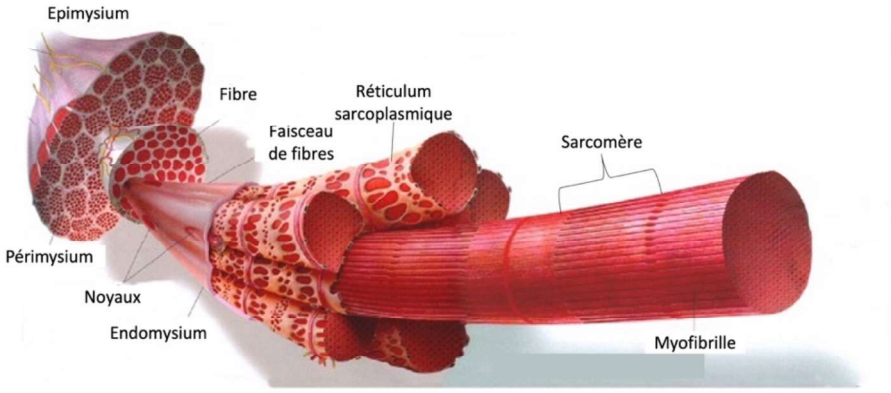


Figure 1: Structure générale du muscle strié squelettique (forme adaptée de Listrat et al., 2016)

Le matériel contractile est enveloppé par l'endomysium, et les myofibrilles qui y sont présentes. Elles sont constituées d'unités répétitives appelées sarcomères (**Figure 1**). Chaque sarcomère comprend deux types de myofilaments : l'actine (filament fin) et la myosine (filament épais) **(Figure 2**).

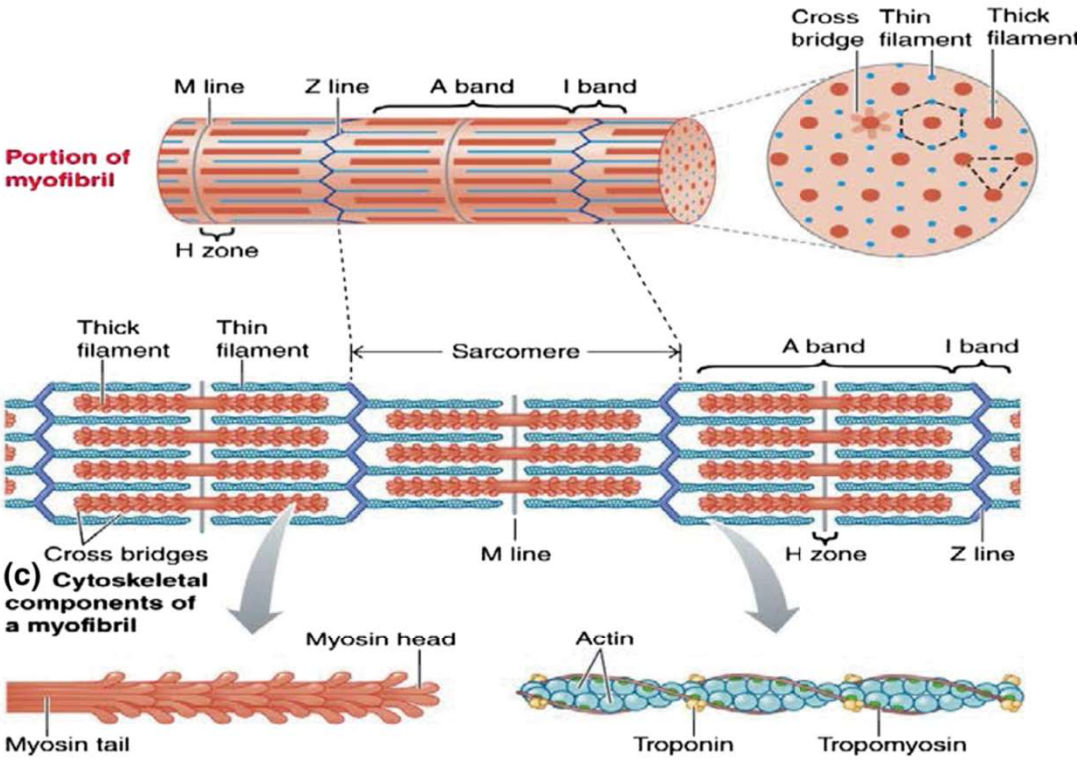


Figure 2 : Structure d'un sarcomère composant les myofibrilles (Frontera and Ochala, 2015).

Le terme « strié » pour le muscle squelettique fait référence à l'agencement de ces deux myofilaments, qui apparaissent respectivement sombres (myosine) et clairs (actine) en raison de leur différence d'épaisseur en microscopie (Shadrin et al., 2016). Au sein du sarcomère, plusieurs structures distinctes peuvent être identifiées (**Figure 2**) : la ligne M, située au centre du sarcomère, est le point d'ancrage des filaments épais de myosine ; la zone H, qui est l'espace entre les deux filaments d'actine, où seuls les filaments de myosine sont présents ; et les stries Z, qui délimitent les extrémités du sarcomère et servent de points d'attache pour les filaments d'actine. Lors de la contraction musculaire, les stries Z se rapprochent en raison du glissement des filaments d'actine vers la ligne M, un mouvement qui est induit par la traction exercée par les têtes de myosine (Powers et al., 2021). Le glissement des filaments d'actine, responsable de la traction, est déclenché par l'arrivée d'un potentiel d'action au niveau de la jonction neuromusculaire (JNM), soulignant le rôle fondamental de l'innervation dans l'initiation de la contraction musculaire.

1.2. Innervation du muscle strié squelettique

Le muscle squelettique est un tissu hautement dynamique et plastique, dont la contraction est régulée par une interaction complexe entre les signaux nerveux et les cellules musculaires. Cette capacité à répondre aux stimulations nerveuses est appelée excitabilité musculaire. Elle est essentielle pour initier la contraction permettant ainsi la production de force musculaire et de mouvement. Le processus de contraction musculaire débute avec l'activation des unités motrices, composées d'un motoneurone et de l'ensemble des fibres musculaires qu'il innerve. Le signal nerveux est transmis à chaque fibre via une JNM, appelée plaque motrice. Lorsqu'un potentiel d'action est transmis par le motoneurone, il atteint la JNM (Frontera and Ochala, 2015). À la JNM, l'acétylcholine libérée se lie alors aux récepteurs situés sur le sarcolemme, c'est-à-dire la membrane de la cellule musculaire (**Figure 3**). Cette liaison entraîne une dépolarisation de la membrane, permettant l'entrée d'ions sodium dans la cellule.

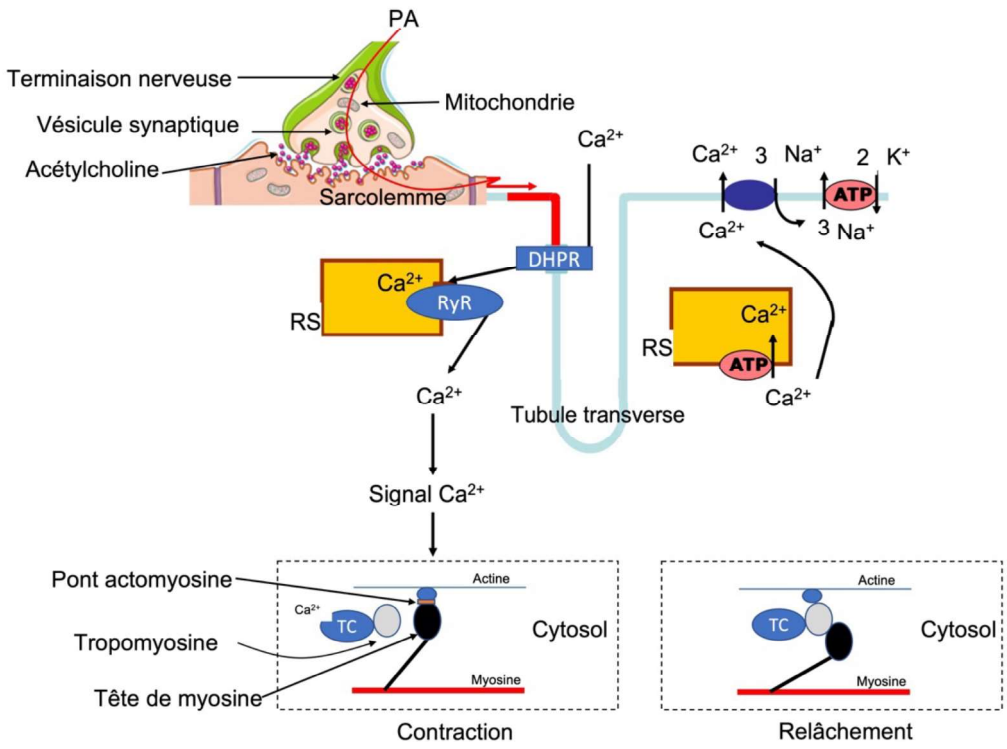


Figure 3: Description de la jonction neuromusculaire induisant la libération du calcium du réticulum sarcoplasmique vers le cytosol, déclenchant ainsi la contraction musculaire. PA : potentiel d'action ; DHPR : dihydropyridine receptor ; RyR : ryanodine receptor ; RS : réticulum sarcoplasmique ; TC : troponine C

Ce changement électrique déclenche la propagation du potentiel d'action le long du sarcolemme et dans les tubules transverses, permettant au signal électrique de pénétrer profondément dans la fibre musculaire. Ce processus favorise alors une faible entrée de calcium permis par le dihydropyridine receptor, un capteur du voltage qui active mécaniquement le ryanodine receptor. Ce mécanisme déclenche le relargage massif du calcium provenant du réticulum sarcoplasmique vers le cytosol. Le calcium joue un rôle crucial en facilitant l'interaction entre les myofilaments d'actine et de myosine. Il se lie à la troponine C de l'actine, provoquant le déplacement du complexe de tropomyosine, ce qui libère les sites d'attachement sur l'actine. Cela permet la formation de ponts entre les filaments d'actine et de myosine, appelés actomyosine, permettant à la myosine de tracter l'actine vers la ligne M. Ce mécanisme de raccourcissement des sarcomères constitue le cœur de la contraction musculaire (Calderón et al., 2014). Lorsque la stimulation nerveuse cesse, l'acétylcholine est rapidement dégradée par l'acétylcholinestérase, ce qui met fin à la dépolarisation de la membrane musculaire. En conséquence, le calcium est pompé de nouveau dans le réticulum sarcoplasmique, ce qui diminue la concentration calcique cytosolique entraînant la dissociation des ponts croisés et permettant au muscle de se relâcher (Calderón et al., 2014). L'excitabilité musculaire et les mécanismes moléculaires associés sont essentiels pour que le muscle squelettique réponde de manière coordonnée aux signaux nerveux, permettant ainsi une contraction efficace, modulée et adaptée aux besoins fonctionnels. Toutefois, ces réponses peuvent varier selon le type de muscle et la proportion de ses fibres musculaires, il en existe trois types.

1.3. Les différents types de fibres musculaires

Le muscle squelettique présente quatre propriétés physiologiques distinctes : l'excitabilité, la contractilité, l'extensibilité et la plasticité. L'excitabilité est induite par les mécanismes neuronaux précédemment décrits, tandis que la contractilité résulte de l'interaction des myofilaments, qui glissent les uns sur les autres pour produire la contraction. L'extensibilité est rendue possible par la titine, une protéine volumineuse composée de 38 138 acides aminés (4200 kDa), localisée entre les stries Z et la ligne M, permettant l'étirement du muscle et son retour à sa taille initiale (Bang et al., 2001; Tskhovrebova and Trinick, 2010). Enfin, la plasticité musculaire désigne la capacité du muscle à répondre à un stress (comme la chaleur, l'intensité de contraction et l'étirement) par une dégradation de sa structure initiale, suivie d'une reconstruction musculaire, constituant ainsi les bases des adaptations musculaires (Flück and Hoppeler, 2003). Les fibres musculaires, responsables de la contraction, sont organisées en

chaînes de sarcomères et possèdent un diamètre moyen de 10 à 100 µm. Chaque unité motrice comprend environ 100 à 1000 fibres musculaires (Frontera and Ochala, 2015). Ces fibres peuvent être classées en trois types principaux **(Tableau 1**) : I, IIa et IIb, selon leurs propriétés métaboliques, leur capacité à produire de l'énergie et leur résistance à la fatigue (Schiaffino and Reggiani, 2011). Chaque type de fibre est spécialisé pour des fonctions précises, en lien avec les besoins énergétiques et la durée de l'effort. Toutefois, ces classifications du phénotype musculaire reposent principalement sur des modèles animaux, en particulier les rongeurs. Chez l'adulte humain, seules les fibres de type I, IIa et IIx sont exprimées. Les fibres de type IIb, bien que fréquemment mentionnées dans la littérature, sont absentes du muscle humain et ne se retrouvent que chez certaines espèces, comme la souris, où elles constituent le type de fibre le plus glycolytique et le plus rapide (Schiaffino and Reggiani, 2011).

Type de fibre	Métabolisme	Couleur	Spécificité énergétique	Capacité contractile	Résistance à la fatigue	Activités
Type I	Oxydatif	Rouge	Abondance en mitochondries et lipides, faible quantité de glycogène	Lente	Haute	Endurance, marathon, course de fond
Type IIa	Mixte (glycolytique et oxydatif)	Rouge	Proportion intermédiaire de mitochondries, glycogène et lipides	Rapide	Modérée	Activités d'endurance haute intensité, exercices intermittents
Type IIb ou IIx	Glycolytique	Blanche	Haute densité de glycogène, faible densité mitochondriale et lipides	Très rapide	Faible	Sprints, levée de poids, entraînement en résistance

Tableau 1 : Caractéristiques des trois types de fibres musculaires squelettiques (Schiaffino and Reggiani, 2011)

Les fibres de type I, ou fibres lentes, sont caractérisées par une couleur rouge, en raison de leur vascularisation abondante et de leur teneur élevée en mitochondries et en myoglobine. Elles possèdent également un réticulum sarcoplasmique et des tubules transverses peu développés, ce qui entraîne une faible excitabilité. Ces fibres ont une faible densité en glycogène mais une teneur élevée en lipides. Elles sont adaptées aux efforts d'endurance, car leur métabolisme oxydatif leur permet de produire de l'énergie en grande quantité, garantissant ainsi une résistance accrue à la fatigue. De par leur capacité à générer des contractions lentes, ces fibres

sont prédominantes lors d'activités prolongées et peu intenses, comme la course de fond ou les marathons (Holloszy and Booth, 1976).

Les fibres de type IIb, ou fibres rapides de couleur blanche, utilisent principalement le métabolisme glycolytique pour produire de l'énergie. Elles stockent de grandes quantités de glycogène et possèdent des niveaux élevés d'enzymes glycolytiques comme la phosphofructokinase et la pyruvate déshydrogénase (PDH). En revanche, elles ont une faible teneur en lipides et une faible densité mitochondriale, ce qui rend leur métabolisme énergétique moins efficace pour des productions d'ATP sur de longues durées. Leur excitabilité est élevée, avec une abondance de plaques motrices, de réticulum sarcoplasmique et de tubules transverses. Ces fibres génèrent des contractions rapides et puissantes, mais se fatiguent rapidement en raison de la production d'acide lactique lors de la glycolyse (décrit dans la partie 1.4.2.3). Elles sont principalement sollicitées lors d'efforts courts et intenses, comme les sprints ou les levées de poids, où une énergie rapide est nécessaire (Schiaffino and Reggiani, 2011).

Enfin, les fibres de type IIa, ou fibres intermédiaires, présentent une combinaison de métabolisme glycolytique et oxydatif. Bien qu'elles possèdent également une couleur rouge et une importante vascularisation, le réticulum sarcoplasmique et les tubules transverses sont plus développés que ceux des fibres de type I. Leur teneur en glycogène et en lipides est élevée, avec des niveaux intermédiaires d'enzymes glycolytiques et oxydatives telles que la phosphofructokinase et la succinate déshydrogénase, respectivement (Bacou and Vigneron, 1988). Ces fibres génèrent des contractions plus rapides que celles de type I, tout en offrant une résistance modérée à la fatigue. Elles sont adaptées aux efforts à intensité modérée et de durée moyenne, comme les activités d'endurance de haute intensité ou les exercices intermittents. La plasticité métabolique des fibres IIa leur permet de s'adapter en fonction de l'entraînement : en endurance, elles augmentent leur densité mitochondriale et adoptent un métabolisme plus oxydatif, tandis qu'en résistance, ces fibres favorisent un métabolisme glycolytique avec une hypertrophie accompagnée d'une diminution de leur densité mitochondriale (Holzer et al., 2006; Li et al., 2024). Cette plasticité métabolique leur permet de répondre à différents types de sollicitations physiques en modifiant leur profil énergétique en fonction des besoins.

Les différents types de fibres musculaires possèdent donc des propriétés énergétiques variées, qui s'adaptent en fonction de l'exercice. Les voies métaboliques qu'elles mobilisent ont pour objectif de produire l'ATP nécessaire pour subvenir aux cycles des contractions. Ces voies se divisent en deux catégories : la voie anaérobie et la voie aérobie, qui se complètent selon les besoins énergétiques.

1.4. Métabolisme énergétique dans le muscle strié squelettique

La production d'énergie indispensable à la contraction musculaire repose sur l'oxydation de divers substrats énergétiques tels que les glucides et les lipides, mais aussi sur l'utilisation de produits issus du métabolisme endogène, comme le lactate, le pyruvate, les corps cétoniques ou certains acides aminés. Afin de comprendre le rôle de chacun de ces substrats, il est nécessaire de replacer leur dégradation dans le contexte du cycle de la contraction musculaire, processus durant lequel l'ATP joue un rôle central. Une fois ce rôle clarifié, les différentes voies métaboliques assurant la production d'ATP seront abordées. Dans un premier temps, les mécanismes anaérobies cytosoliques seront décrits, notamment la voie de la créatine kinase et la glycolyse, ainsi que les utilisations possibles de leurs produits. Ensuite, les voies aérobies mitochondriales seront décrites, en détaillant les processus internes de la mitochondrie qui permettent l'oxydation du pyruvate (issu du glucose) et des acides gras pour assurer une production continue d'ATP. Enfin, l'interaction et la régulation croisée entre ces substrats seront évoquées, tout comme les produits métaboliques issus de l'oxydation aérobie, leur rôle physiologique et leur régulation.

1.4.1. Le rôle de l'énergie dans le cycle d'une contraction

Dans le muscle squelettique, l'ATP permet la conversion de l'énergie chimique en énergie mécanique. Au cours d'un cycle de contraction, cinq étapes successives sont observées conduisant au raccourcissement du muscle **(Figure 4)** (Frontera and Ochala, 2015).

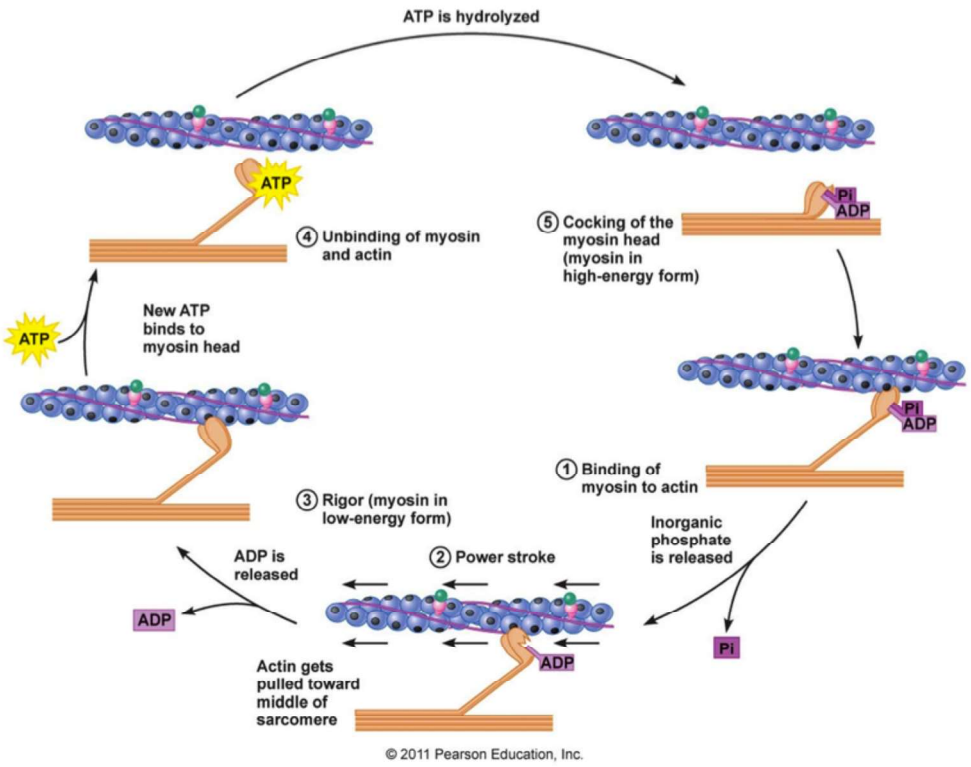


Figure 4 : Description du cycle d'une contraction musculaire et le rôle de l'ATP (de Oliveira Vilaca, 2016).

Dans un premier temps, la tête de myosine se fixe sur un site spécifique du filament d'actine, formant le pont actomyosine. Cette fixation nécessite la présence de calcium, libérant ainsi les sites de liaison sur l'actine. Dans un deuxième temps, la tête de myosine effectue un pivotement (ou « coup de force »), tirant le filament d'actine vers le centre du sarcomère (ligne M), ce qui entraîne le raccourcissement du muscle, autrement dit sa contraction. Ensuite, une molécule d'ATP se fixe sur la tête de myosine, induisant le détachement du filament d'actine. Ce détachement est indispensable pour permettre un nouveau cycle de contraction. Enfin, l'ATP est hydrolysée en adénosine diphosphate (ADP) et en phosphate inorganique (Pi), fournissant l'énergie nécessaire pour recharger la tête de myosine, qui reprend alors sa conformation initiale, prête à initier un nouveau cycle. Ainsi, l'ATP est indispensable à plusieurs niveaux : elle permet à la myosine de se détacher de l'actine, puis lui fournit l'énergie nécessaire pour se replier et recommencer le cycle. Sans ATP, la myosine resterait attachée à l'actine, entraînant une rigidité musculaire. Il a été mesuré par spectroscopie par résonnance magnétique qu'au sein d'un quadriceps humain, environ 8 mM d'ATP sont stockés (Kemp et al., 2007). Lors d'un exercice modéré d'extension du genou, le taux moyen de renouvellement de l'ATP dans les muscles quadriceps est d'environ 24 mM/min (Cannon et al., 2014). Ainsi, en l'absence de production immédiate d'ATP, il suffirait de 20 secondes (8/24 = 0,33 min) pour épuiser

complètement les stocks. Les contractions répétées nécessitent donc de l'ATP en continu. Pour cela, différentes voies énergétiques sont impliquées et décrites dans la **Figure 5**.

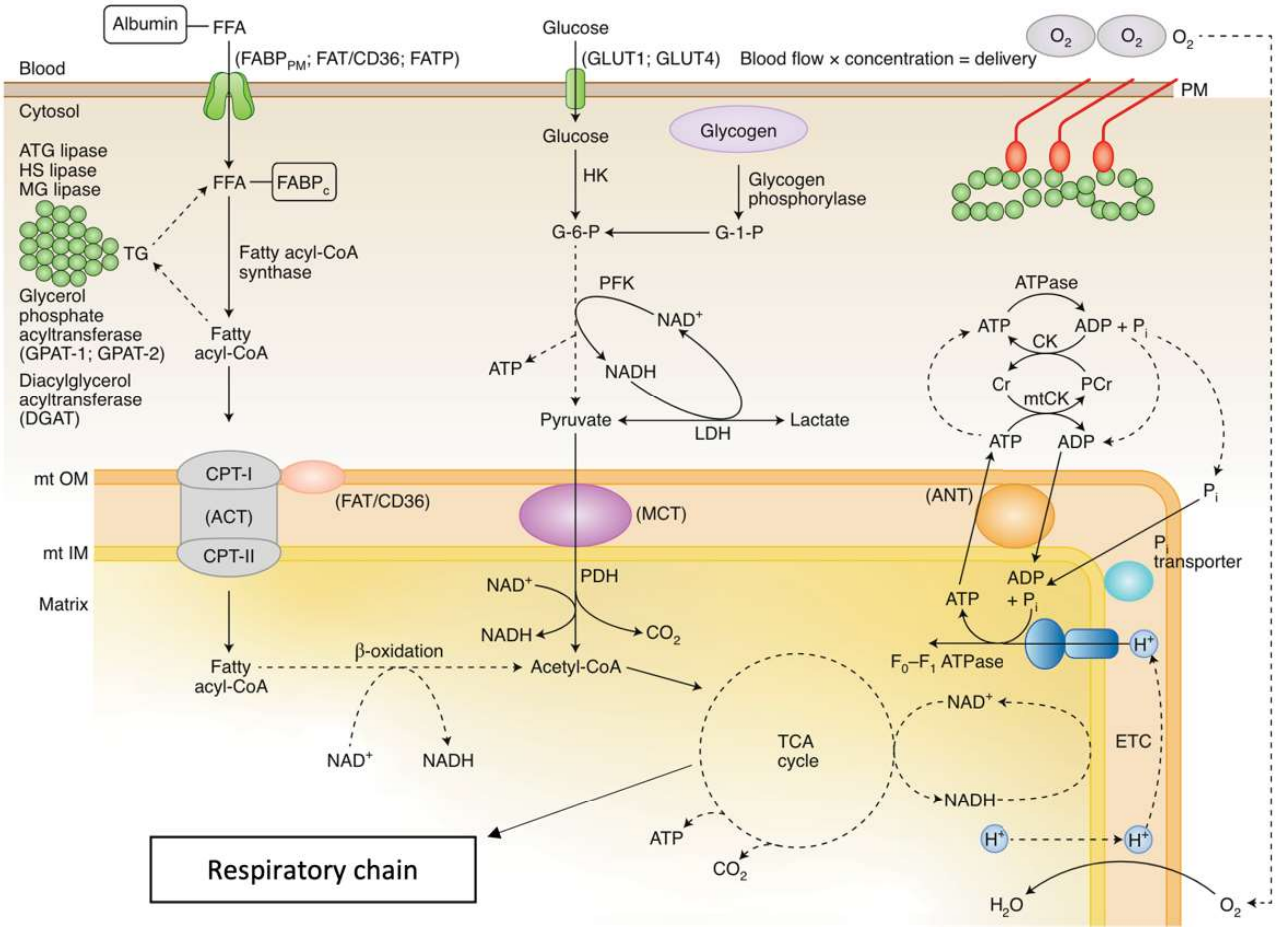


Figure 5: Principales voies métaboliques dans le muscle squelettique (Hargreaves and Spriet, 2020). FFA : free fatty acids ; PM : plasma membrane ; FABPpm : fatty acid binding protein plasma membrane ; FATP : fatty acid transport protein ; ATG : adipose tissue triglycerides ; HS : hormone-sensitive lipase ; MG : monoglyceride ; TG : triglyceride ; FABPc : fatty acid binding protein cytoplasmic ; HK : hexokinase ; PFK : phosphofructokinase ; LDH : lactate dehydrogenase ; Cr : creatine ; mtCK : mitochondrial creatine kinase ; mtOM : mitochondrial outer membrane ; mtIM : mitochondrial inner membrane ; ACT : acyl-CoA transferase ; MCT : monocarboxylate transporter ; ANT : adenine nucleotide translocator ; PDH : pyruvate dehydrogenase ; ETC : electron transport chain

Par la suite, ces voies métaboliques seront décrites en détail dans des conditions aérobies et anaérobies. Les mécanismes d'autorégulation seront également abordés.

1.4.2. La production d'ATP anaérobie

La production d'ATP par voie anaérobie permet de fournir rapidement de l'énergie, indispensable lors d'un effort intense et immédiat. Toutefois, cette capacité est limitée dans le temps, en raison de l'épuisement rapide des substrats et de l'accumulation de métabolites.

1.4.2.1. La créatine phosphate

L'un des premiers processus utilisés est la phosphorylation directe de l'ADP par la phosphocréatine (PCr) (**Figure 6**). En effet, l'ADP est un intermédiaire énergétique qui peut être rapidement converti en ATP pour fournir de l'énergie aux cellules musculaires. La PCr, quant à elle, est une molécule stockée dans le muscle, servant de réservoir immédiat pour la régénération rapide de l'ATP. Cette réaction est catalysée par la créatine kinase (CK) (Sahlin and Harris, 2011). Lors d'une contraction musculaire brève ou répétée en absence d'oxygène, la concentration en ATP reste relativement stable (Allen et al., 1997). Cela ne signifie pas que l'ATP n'est pas consommée, mais plutôt qu'elle est immédiatement régénérée (**Figure 6**).

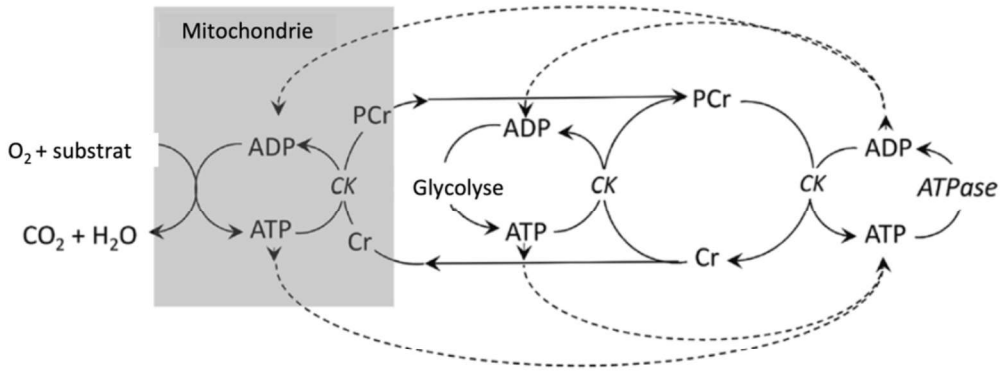


Figure 6 : Métabolisme de la phosphocréatine dans le muscle squelettique (Barclay, 2017). PCr : phosphocréatine ; CK : créatine kinase ; Cr : créatine

La dégradation de la PCr permet un effet tampon de l'ATP lorsque cette dernière est mobilisée. De plus, elle est accompagnée d'une captation de protons (H^+), ce qui influence l'équilibre acido-basique du cytosol musculaire. Dans des conditions physiologiques, cette captation est évaluée à environ un ion H^+ par molécule de PCr hydrolysée (Lawson and Veech, 1979). Les muscles humains stockent environ 120 à 125 mmol/kg de PCr (Harris et al., 1992; Hultman et

al., 1996) et ces réserves permettent de soutenir une contraction intense pendant quelques secondes. L'hydrolyse de la PCr entraîne la libération de créatine et de Pi, ce qui explique les principaux changements biochimiques observés lors d'une contraction musculaire, tels que l'augmentation du Pi et de la créatine libre, la baisse de la concentration en PCr, la diminution du pH intracellulaire, ainsi que la stimulation de la glycolyse anaérobie (Barclay, 2017). Étant donné que les réserves d'ATP permettent de soutenir environ 20 secondes d'exercice modéré, la PCr peut prolonger cet effort d'environ 80 secondes supplémentaires. Cependant, si la consommation d'ATP atteint 400 mM/min, les réserves combinées d'ATP et de PCr ne permettront de soutenir l'activité seulement pendant environ 6 secondes. Ainsi, bien que la PCr assure une régénération rapide de l'ATP, cette régénération est limitée dans le temps. Pour un effort prolongé, il est donc crucial que l'ATP et la PCr soient régénérés par d'autres processus. A l'inverse, la régénération de la PCr correspond à la réaction inverse de sa dégradation. L'ATP nécessaire pour cette régénération provient de différentes voies métaboliques, selon l'intensité de l'exercice. Lors d'un effort intense et de courte durée, l'ATP est principalement produite par la glycolyse anaérobie, issue de la dégradation du glycogène musculaire. En revanche, lors d'un effort modéré et prolongé, la production d'ATP repose majoritairement sur la phosphorylation oxydative au sein des mitochondries. Lorsque le muscle atteint un état d'équilibre énergétique, les vitesses de dégradation et de régénération de la PCr deviennent équivalentes, expliquant ainsi la stabilisation de sa concentration (Barclay, 2017).

1.4.2.2. La glycolyse

La deuxième voie anaérobie permettant la production d'énergie est la glycolyse, qui se déroule dans le cytosol musculaire (**Figure 7**).

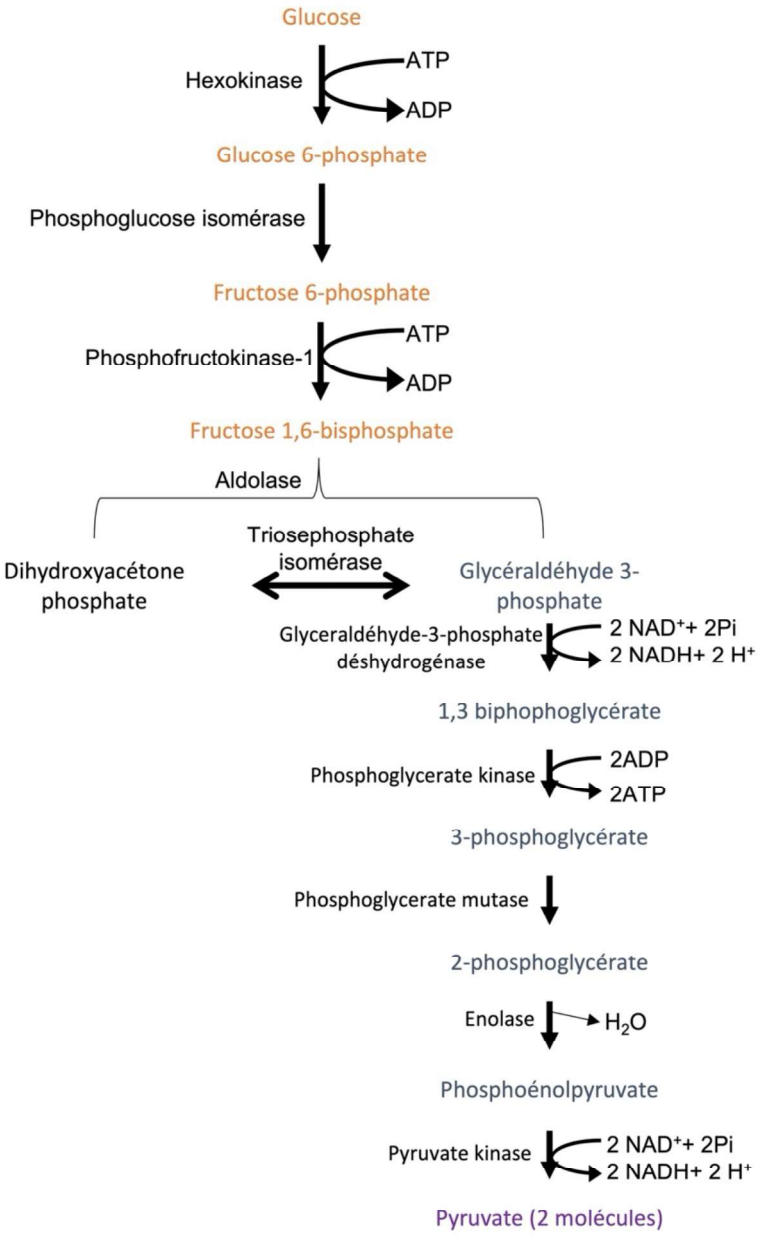


Figure 7 : Étapes de la glycolyse. NAD : nicotinamide adénine dinucléotide ; Pi : phosphate inorganique ; H+ : proton

Le rôle principal de la glycolyse est de convertir le glucose en pyruvate à la suite d'une cascade de dix réactions enzymatiques (**Figure 7**).

Le pyruvate obtenu par la glycolyse cytosolique, constitue un métabolite clé pouvant suivre plusieurs voies métaboliques. En conditions anaérobies, lorsque l'oxygène est insuffisant, il peut être réduit en lactate, tandis qu'en condition aérobie, lorsque l'oxygène est disponible, le pyruvate est oxydé en acétyl-CoA afin d'être utilisé par la phosphorylation oxydative. Ainsi, le devenir du pyruvate dépend principalement de la disponibilité en oxygène, modulant le métabolisme énergétique cellulaire entre glycolyse anaérobie et respiration aérobie.

1.4.2.3. Le lactate, un produit controversé

Le pyruvate, produit lors de la glycolyse, n'est pas systématiquement oxydé par les mitochondries ; il peut être réduit en lactate dans le cytosol musculaire par la lactate déshydrogénase (LDH). Contrairement à une idée reçue, cette réaction n'acidifie pas directement le milieu intracellulaire ; au contraire, elle consomme un proton selon l'équation :

$$\text{pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{LDH} \text{lactate} + \text{NAD}^+$$

participant ainsi à un effet tampon face à l'acidification produite par d'autres voies. Le lactate joue un rôle clé dans la régénération du NAD^+, indispensable au maintien du flux glycolytique dans le cytosol, permettant ainsi une production continue d'ATP en absence d'oxygène (Melkonian and Schury, 2022). Cette voie de production d'énergie anaérobie est environ 100 fois plus rapide que les processus aérobies et peut fonctionner plus longtemps que la première voie de régénération de l'ATP impliquant la PCr. Le principal contributeur à l'acidose observée lors d'un exercice intense est l'hydrolyse de l'ATP, qui libère un proton (H^+) et du Pi. Ce Pi existe sous deux formes principales (HPO_4^{2-} et $H_2PO_4^-$), dont l'équilibre dépend du pH ; une acidose intracellulaire favorise la conversion vers $H_2PO_4^-$, mais on ignore encore laquelle de ces formes impacte le plus la fonction contractile et les enzymes musculaires (Miller et al., 1988; Woodward and Debold, 2018). L'origine exacte de cette acidose reste un sujet de débat (Bartoloni et al., 2024) : certaines théories suggèrent que la production d'ATP non mitochondriale pourrait être responsable de la génération des ions H^+, tandis que d'autres estiment que l'électroneutralité est maintenue par l'interaction entre le lactate chargé négativement et les H^+ libérés lors de la dissociation de l'eau.

Considérant l'acidose pouvant se produire au niveau muscluaire, celle-ci a longtemps été considérée comme l'une des principales causes de la fatigue musculaire. Lors d'un exercice intense, la concentration de lactate intracellulaire peut atteindre 30 mM, accompagnée d'une légère baisse du pH intracellulaire d'environ 0,5 unité. Cependant, cette acidification n'affecte pas directement la vitesse de raccourcissement des fibres musculaires liées à la fatigue, car l'acide lactique, en se dissociant en lactate et ions H^+, agit comme un tampon métabolique limitant l'accumulation excessive de protons. Ce rôle tampon contribue à préserver la fonction contractile des fibres, retarde l'apparition de la fatigue et favorise les adaptations métaboliques (Bartoloni et al., 2024). La fatigue musculaire ne peut donc pas se résumer à uniquement une

cause lactate/acidose. Finalement, elle résulte d'un ensemble de facteurs, incluant les perturbations ioniques, la diminution de la fonction enzymatique, l'accumulation de Pi, mais aussi l'activation des afférences musculaires de type III (fibres sensorielles myélinisées détectant pression, étirement et douleur aiguë) et IV (fibres sensorielles non myélinisées détectant douleur diffuse, fatigue et stimuli chimiques), sensibles à des variations métaboliques locales. Cette activation augmente la perception de l'effort et participe à la fatigue perçue, en interaction avec des mécanismes centraux et périphériques encore imparfaitement compris (Jankowski et al., 2013).

Enfin, le lactate produit, constitue également un substrat énergétique utilisable par d'autres muscles, le cœur et le cerveau, et sert à la synthèse de glucose dans le foie via le cycle de Cori (Iepsen et al., 2022; Yang et al., 2020). Il est rapidement libéré dans le sang par les monocarboxylate transporters et peut être capté par divers tissus pour un usage métabolique(Adeva-Andany et al., 2014; Mächler et al., 2016).

1.4.3. La production d'ATP aérobie

La production d'ATP, en présence d'oxygène, se réalise dans la mitochondrie par la phosphorylation oxydative, appelée aussi respiration mitochondriale, qui comprend trois étapes principales : la glycolyse et la β-oxydation, le cycle de Krebs, et la chaîne de transport des électrons. Les mitochondries utilisent divers substrats, tels que le glucose, les acides gras, les acides aminés et le lactate (Nolfi-Donegan et al., 2020). Les substrats énergétiques sont ensuite métabolisés en acétyl-CoA, qui intègre le cycle de Krebs. Ce dernier génère des cofacteurs qui alimentent alors la chaîne respiratoire mitochondriale, permettant ainsi la production d'ATP.

1.4.3.1. La mitochondrie : anatomie et fonctions d'un organite dynamique

La densité mitochondriale dans le muscle squelettique varie entre 2 et 6 % chez les individus non entraînés, et peut atteindre jusqu'à 11 % chez les individus entraînés, tandis que dans le muscle cardiaque, elle est d'environ 52 % (Pesta, 2024). Les mitochondries mesurent entre 0,1 et 0,5 micromètre de diamètre et environ 1 à 2 µm de longueur, pouvant s'étendre jusqu'à 10 µm (Frey and Mannella, 2000). Elles comprennent quatre régions distinctes : la membrane externe (ME), l'espace intermembranaire (EI), la membrane interne (MI), et la matrice mitochondriale (**Figure 8**).

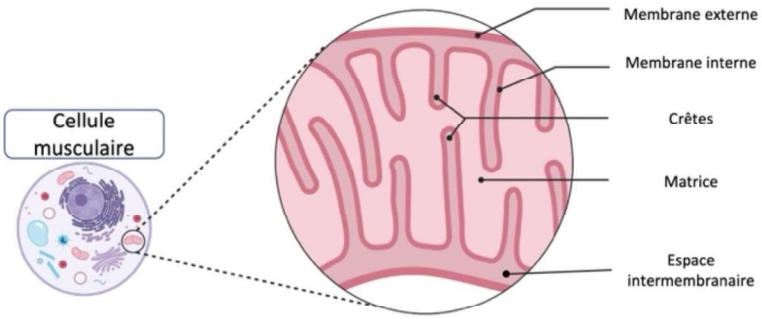


Figure 8 : Structure générale d'une mitochondrie

La ME, relativement poreuse, est constituée à 40 % de lipides (phospholipides (PL) comme les phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine) et 60 % de protéines. Les petites molécules (< 10 kDa) peuvent traverser la ME grâce à des porines telles que le VDAC (canal voltage-dependent anion channel) non sélectif, ce qui fait de l'EI un milieu chimiquement similaire au cytosol. En revanche, l'EI joue un rôle essentiel dans la régulation de l'importation des protéines provenant du noyau vers la matrice mitochondriale, *via* des translocons localisés sur la ME et la MI. De plus, la MI forme des replis correspondant à des crêtes, abritant les complexes protéiques impliqués dans la phosphorylation oxydative nécessaire à la respiration cellulaire (Hood et al., 2019). La MI est constituée de 20 % de PL (cardiolipine) et de 80 % de protéines, la rendant beaucoup moins perméable. Elle renferme de nombreux transporteurs spécifiques, ce qui permet de préserver l'intégrité de la matrice mitochondriale (Cui et al., 2021). Chez l'Homme, la matrice mitochondriale contient de l'acide désoxyribonucléique (ADN) circulaire à double brin d'environ 16,5 kb, portant 37 gènes, dont 13 codent pour des protéines impliquées dans la chaîne respiratoire (Habbane et al., 2021; Rustin et al., 2007). Cependant, bien que les mitochondries possèdent leur propre génome, elles ne sont pas pour autant autonomes car de nombreuses protéines mitochondriales sont codées par le génome nucléaire de la cellule musculaire (Calvo and Mootha, 2010; Rackham and Filipovska, 2022; Rimbaud et al., 2009). De plus, aussi bien dans des conditions physiologiques qu'en réponse à l'exercice ou à certaines pathologies métaboliques, les mitochondries subissent des processus de fusion et de fission, un phénomène connu sous le nom de dynamique mitochondriale.

La fusion mitochondriale est un processus biologique au cours duquel deux mitochondries s'unissent pour former une mitochondrie unique, favorisant l'homogénéisation du contenu mitochondrial, notamment l'ADN et les protéines. Ce mécanisme joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie et de la fonction mitochondriale.

À l'inverse, la fission mitochondriale correspond à la scission d'une mitochondrie en deux mitochondries distinctes. La fission est impliquée dans l'élimination des mitochondries endommagées et dans une redistribution des mitochondries au sein du cytosol, notamment lors de la division cellulaire et de la réponse au stress cellulaire. Ces deux mécanismes garantissent une efficacité mitochondriale optimale (Adebayo et al., 2021). En outre, les mitochondries ne se contentent pas de produire de l'ATP. En effet, elles sont également impliquées dans la régulation de l'homéostasie calcique, la signalisation cellulaire, la thermogénèse, la régulation du pH intracellulaire et dans des mécanismes d'apoptose (Faitg et al., 2017). Toutefois, dans ce travail, seuls les mécanismes d'oxydation énergétique associés au glucose et aux acides gras seront décrits.

1.4.3.2. Oxydation du glucose

L'entrée du glucose dans la cellule musculaire s'effectue par un transporteur membranaire spécifique (**Figure 9**). Ce transporteur est appelé glucose transporter type 4 (GLUT4), codé par le gène SLC2A4 (McGee and Hargreaves, 2024).

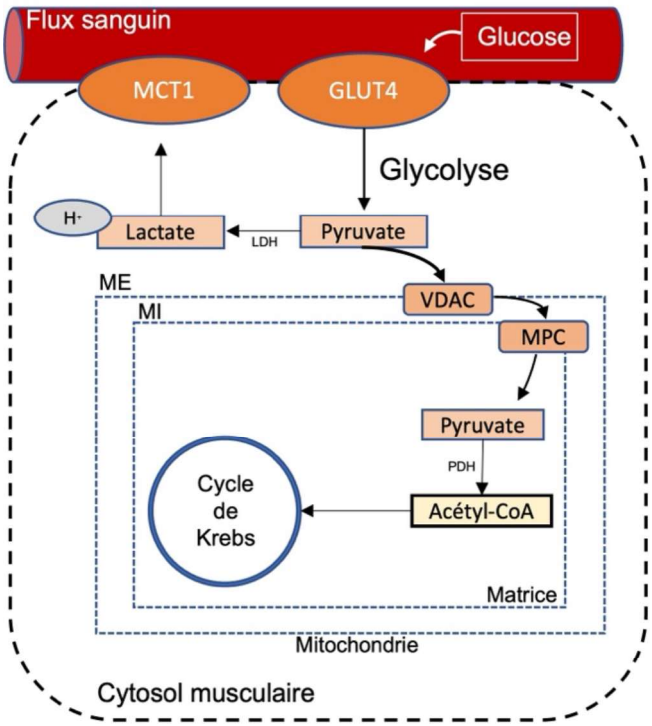


Figure 9 : Métabolisme du glucose. MCT1 : monocarboxylate transporter 1 ; GLUT4 : glucose transporter type 4 ; VDAC : voltage-dependent anion channel complex ; MPC: mitochondrial pyruvate carrier ; PDH: pyruvate dehydrogenase ; LDH : lactate dehydrogenase ; ME : membrane externe ; MI : membrane interne

Une fois à l'intérieur de la cellule, le glucose est métabolisé en pyruvate dans le cytosol par la glycolyse, correspondant à l'oxydation partielle du glucose. Le pyruvate va traverser librement la ME de la mitochondrie *via* les porines VDAC. Une fois dans l'EI, le pyruvate emprunte le MPC (mitochondrial pyruvate carrier) pour franchir la MI (Yiew and Finck, 2022). Dans la matrice mitochondriale, le pyruvate est catalysé par la PDH, subissant une décarboxylation. Le groupe acétyle obtenu est ensuite oxydé et lié à la coenzyme A, formant de l'acétyl-CoA. A ce stade, l'oxydation du glucose est complète. L'acétyl-CoA intègre alors le cycle de Krebs pour la suite de la phosphorylation oxydative. L'acétyl-CoA peut également être issu de l'oxydation des acides gras. Leur dégradation nécessite des processus métaboliques spécifiques, tels que la β-oxydation, généralement plus longs et complexes que la glycolyse.

1.4.3.3. Oxydation des acides gras

Les acides gras libres (AGL) circulants peuvent être captés par les cellules musculaires grâce à des transporteurs spécifiques tels que CD36 (cluster of differentiation 36) (Ramos-Jiménez et al., 2023). Le CD36 est une glycoprotéine dont l'expression est induite lors de l'augmentation des besoins en production d'ATP, faisant des AGL un substrat d'intérêt pour les mitochondries (Ramos-Jiménez et al., 2023). En effet, les AGL présents dans le cytosol traversent la ME mitochondriale en fonction de leur longueur carbonée. Les acides gras de moins de 10 atomes de carbone peuvent traverser librement les deux membranes mitochondriales (Demizieux, 2005). Tandis que les acides gras à longue chaîne doivent être convertis en acyl-CoA dans le cytosol avant de se lier à la L-carnitine pour être transportés *via* la carnitine palmitoyltransférase 1 (CPT1) vers la ME de la mitochondrie et la carnitine palmitoyltransférase 2 (CPT2) dans la matrice (**Figure 10**) (Maunder et al., 2023).

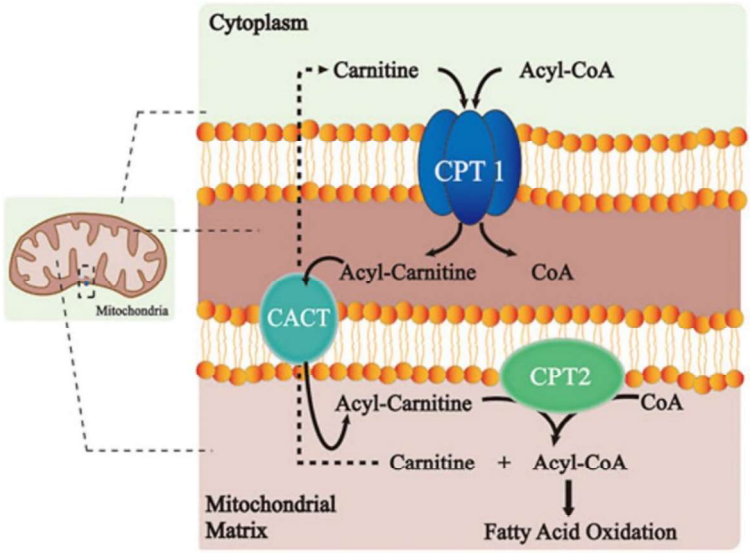


Figure 10 : Représentation du passage des acides gras à longues chaines à travers les deux membranes mitochondriales (Wang et al., 2021). CPT1 : carnitine palmitoyltransferase 1 ; CPT2 : carnitine palmitoyltransferase 2 ; CACT : carnitine-acylcarnitine translocase

Tout d'abord, les AGL sont activés en acyl-CoA dans le cytosol par l'acyl-CoA synthétase avant d'être transportés vers la mitochondrie. Ensuite, les CPT1A et CPT1B ancrées dans la membrane externe mitochondriale, catalysent la première étape du transport, où l'acyl-CoA à chaîne longue et la carnitine forment une acylcarnitine et du CoA. Les acylcarnitines sont ensuite transférées du cytosol vers l'EI, où l'acylcarnitine est reconverti en acyl-CoA grâce à l'activité de la CPT2 localisée au niveau de la MI. Ce processus permet le transport de l'acyl-CoA disponible dans la matrice mitochondriale. En parallèle, la carnitine libérée est réutilisée et transportée dans l'EI de la mitochondrie par la carnitine-acylcarnitine translocase pour y être à nouveau disponible pour d'autres acides gras (Wang et al., 2021). Une fois dans la matrice, l'acyl-CoA entre dans le cycle de la β-oxydation pour produire de l'acétyl-CoA (Tillander et al., 2017). C'est à cette étape précise que l'acide gras initial commence à être oxydé par quatre étapes catalysées par des enzymes qui sont dépendantes de la longueur des acides gras (**Figure 11**).

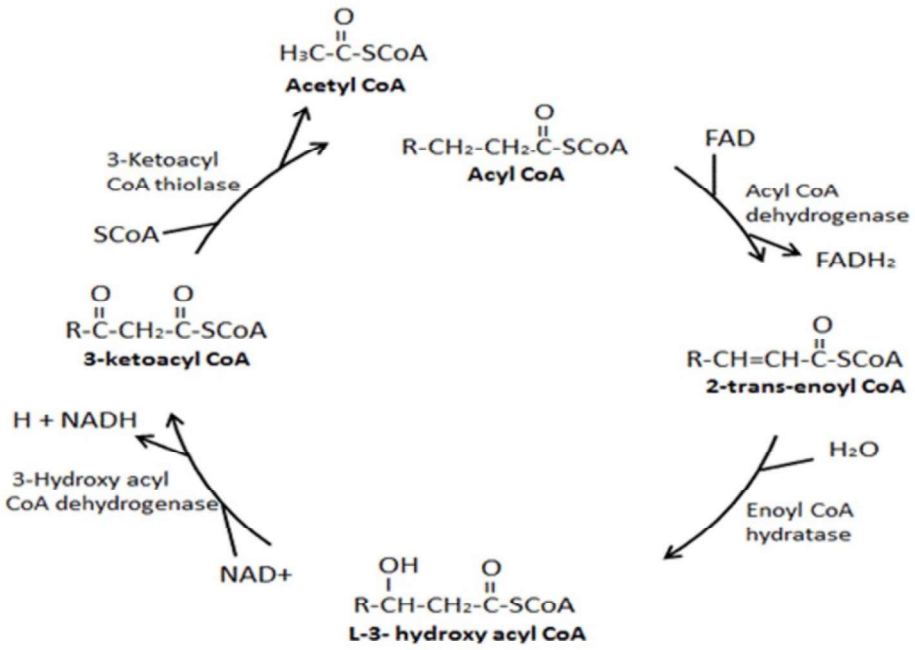


Figure 11 : La β-oxydation mitochondriale. SCoA : succinyl-coenzyme a ; FADH2 : flavin adenine dinucleotide, reduced form ; FAD : flavin adenine dinucleotide, oxidized form ; NAD+ : nicotinamide adenine dinucleotide, oxidized form ; NADH : nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form (Fillmore et al., 2011)

Chaque cycle raccourcit la chaîne de l'acyl-CoA (acide gras) de deux carbones et génère de l'acétyl-CoA, du NADH et du $FADH_2$ (reduced flavin adenine dinucleotide). La première étape est catalysée par l'acyl-CoA déshydrogénase, la deuxième par la 2-enoyl-CoA hydratase, la troisième par la 3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase, et la dernière par la 3-cétoacyl-CoA thiolase, qui libère un acétyl-CoA pour le cycle de Krebs et génère un nouvel acyl-CoA raccourci, prêt pour un nouveau tour du cycle (Houten et al., 2016; Vieira-Lara and Bakker, 2024). Les acides gras insaturés subissent une étape supplémentaire au niveau de l'acyl-CoA déshydrogénase, où la double liaison *cis* est convertie en *trans* afin de permettre la poursuite du cycle. Parmi les mécanismes de régulation de la β-oxydation des acides gras, les PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) jouent un rôle important. En effet, leur activation permet de réguler les niveaux intracellulaires en AGL en augmentant le niveau d'expression des CPT (Ye et al., 2019).

L'oxydation des acides gras se termine lorsque la dégradation de l'acyl-CoA par la β-oxydation est complète, conduisant à la formation d'acétyl-CoA qui, comme celui issu de l'oxydation du glucose, intègre le cycle de Krebs. Cependant, la β-oxydation des acides gras génère une quantité d'acétyl-CoA nettement supérieure à celle produite par la glycolyse, idéale au cours d'un jeûne ou d'effort prolongé. Par ailleurs, une régulation croisée entre l'oxydation des acides

gras et celle du glucose a été mise en évidence. Le cycle de Randle est un mécanisme assurant un équilibre dynamique dans le métabolisme énergétique cellulaire.

1.4.3.4. Cycle de Randle

En 1963, Randle et ses collaborateurs ont démontré l'existence d'un cycle glucose-acide gras grâce à des expériences réalisées sur le cœur de rat isolé et perfusé (Randle et al., 1963). Il a été observé qu'une augmentation des AGL réduisait l'utilisation du glucose par le myocarde. Par la suite, il a été suggéré qu'une accumulation excessive d'AGL pourrait contribuer au développement du diabète de type 2 (Randle et al., 1988). Ces travaux ont révélé une interaction étroite entre les deux nutriments, où l'augmentation de l'oxydation de l'un entraîne une diminution de celle de l'autre. Ces mécanismes d'équilibre entre les substrats ont aussi été identifiés dans le muscle squelettique (Li et al., 1993; Massao Hirabara et al., 2003). De plus, l'autorégulation des substrats s'est avérée être interconnectée entre le muscle et le tissu adipeux (**Figure 12**) (Hue and Taegtmeyer, 2009a).

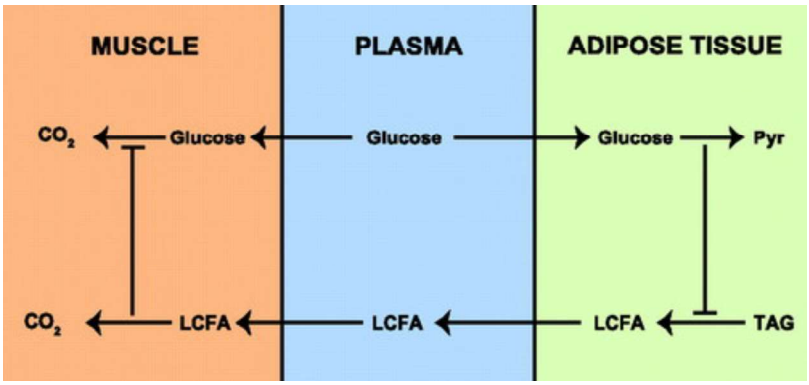


Figure 12 : Cycle de Randle par Hue and Taegtmeyer, 2009. Pyr : pyruvate ; TAG : triglyceride ; LCFA : long-chain fatty acid

En effet, lorsque les substrats plasmatiques comme le glucose et les AGL sont captés par le muscle, une élévation du taux d'AGL inhibe l'oxydation du glucose. En revanche, dans le tissu adipeux, une concentration élevée de glucose ou de pyruvate inhibe la lipolyse des triglycérides (TG) (mécanisme décrit partie 2.2.2), diminuant ainsi la libération d'AGL et leur disponibilité pour les muscles. Ce mécanisme autorégulateur, dans des conditions physiologiques, permet de maintenir un équilibre dans l'utilisation des deux substrats énergétiques, lequel peut être modulé

en fonction des besoins énergétiques, en particulier lors de l'exercice physique (Petersen et al., 2025).

De façon plus spécifique, cette autorégulation est retrouvée dans les processus d'oxydation du glucose et des acides gras comme décrit dans la **Figure 13**.

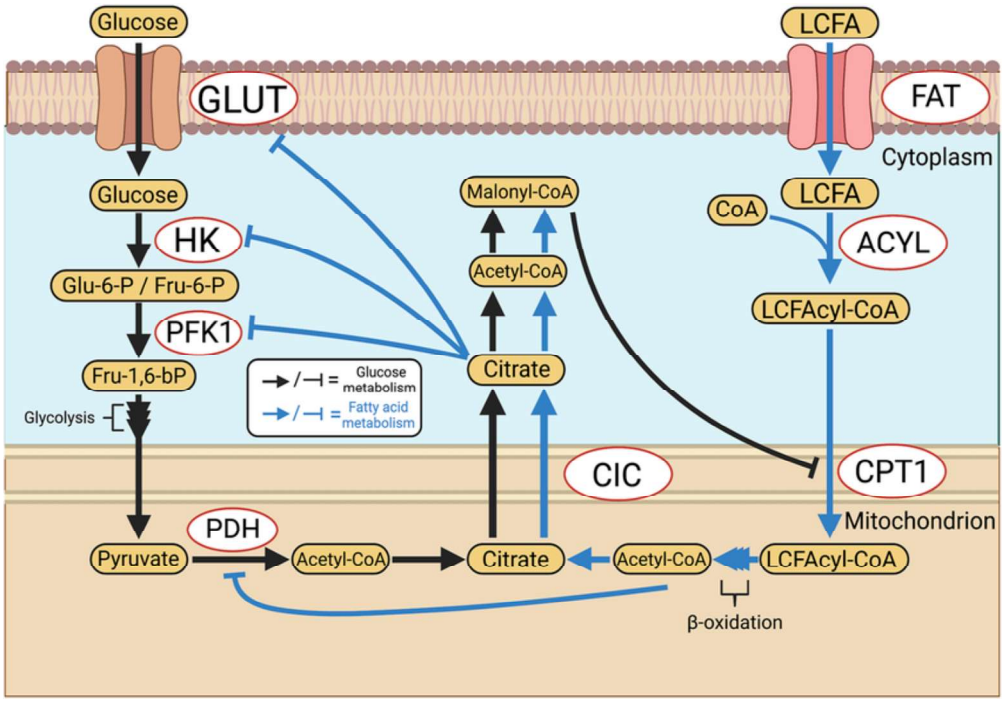


Figure 13 : Cycle de Randle au niveau des transporteurs (Breault et al., 2023). GLUT : glucose transporter ; HK : hexokinase ; PFK1 : phosphofructokinase 1 ; PDH : pyruvate dehydrogenase ; CIC : citrate-isocitrate transporter ; CPT1 : carnitine palmitoyltransferase ; ACYL : acyl-CoA ligase ; FAT : fatty acid transporter ; LCFA : long-chain fatty acid

L'oxydation des acides gras est caractérisée par une forte augmentation des rapports acétyl-CoA / CoA et NADH / NAD^+, ce qui active la pyruvate déshydrogénase kinase qui, en phosphorylant la PDH, devient inactive. Cela aboutit à une diminution de l'oxydation du pyruvate en acétyl-CoA. De plus, l'augmentation du rapport acétyl-CoA / CoA entraîne une accumulation de citrate dans le cytosol, ce qui, non seulement perturbe le recrutement de GLUT4, mais aussi inhibe également la 6-phosphofructo-1-kinase, une enzyme clé de la glycolyse. Dans certains tissus comme le muscle squelettique, cette accumulation entraîne également une diminution de l'activité de l'hexokinase, une autre enzyme essentielle de la glycolyse (Hue and Taegtmeyer, 2009b).

D'autre part, l'augmentation de l'oxydation du glucose régule négativement celle des acides gras. En effet la glycolyse et la PDH aboutissent à la production d'acétyl-CoA qui intègre le cycle de Krebs, induisant également la formation de citrate. Cependant, le citrate ne s'accumule

pas, car il est rapidement converti en acétyl-CoA par la citrate lyase, puis en malonyl-CoA grâce à l'action de l'ACC, une enzyme insulino-dépendante. Le malonyl-CoA inhibe alors CPT1 limitant l'entrée des acides gras dans la mitochondrie et favorisant le stockage sous forme de TG (Hue and Taegtmeyer, 2009b; McCommis and Finck, 2015) (**Figure 13**). Concernant l'implication d'hormones de régulation du métabolisme lipidique, une augmentation de l'insulinémie stimule l'ouverture de GLUT4, comme observée en état post-prandial, augmentant l'oxydation du glucose. A l'inverse, l'antagoniste à l'insuline, le glucagon, est souvent augmentée en état de jeûne, elle favorise l'oxydation des acides gras tout en diminuant l'oxydation glycolytique (Hue and Taegtmeyer, 2009b).

Ces mécanismes ont pour objectif de réguler la production d'acétyl-CoA, qui constitue le substrat central du cycle de Krebs, le point de convergence majeur des voies cataboliques de l'oxydation du glucose et des acides gras.

1.4.3.5. Cycle de Krebs

L'acétyl-CoA est un intermédiaire central qui s'insère dans le cycle de Krebs, également connu sous le nom de cycle tricarboxylique ou cycle de l'acide citrique qui a lieu dans la matrice mitochondriale. Décrit pour la première fois en 1937 par Krebs et Johnson, ce cycle s'effectue par huit réactions enzymatiques successives (**Figure 14**), permettant la conversion de l'acétyl-CoA en cofacteurs énergétiques essentiels à la chaîne respiratoire (Krebs and Johnson, 1937).

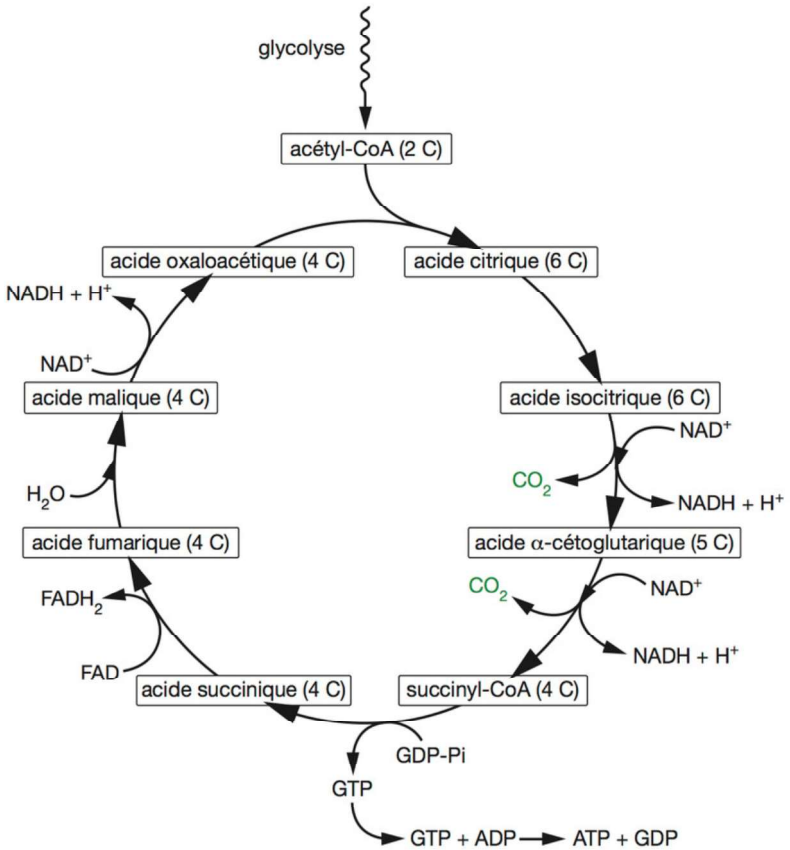


Figure 14 : Représentation des huit étapes du cycle de Krebs. NADH : reduced nicotinamide adenine dinucleotide ; $FADH_2$: reduced flavin adenine dinucleotide

Ces transformations conduisent à la réduction de trois molécules de NAD^+ en NADH et d'une molécule de FAD en $FADH_2$, ainsi qu'à la production d'une molécule d'ATP (ou de guanosine triphosphate dans le foie). Les coenzymes réduits, NADH et $FADH_2$, sont ensuite réoxydés durant la phosphorylation oxydative.

1.4.3.6. La phosphorylation oxydative

Le cycle de Krebs alimente la chaîne de transport des électrons, également appelée chaîne respiratoire, située au niveau des crêtes de la MI mitochondriale (**Figure 15**).

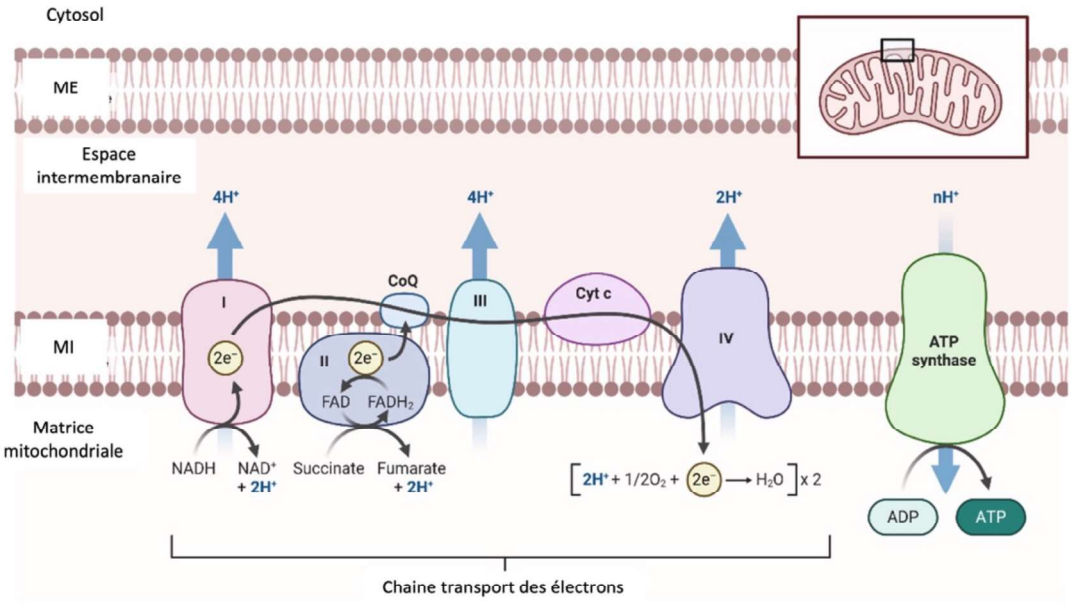


Figure 15 : La chaîne respiratoire. ME : membrane externe ; MI : membrane interne ; NADH : nicotinamide adénine dinucléotide réduit ; $FADH_2$: flavine adénine dinucléotide réduite ; CoQ : coenzyme Q ; Cyt c : cytochrome C (édité avec Biorender)

L'oxydation du NADH et du $FADH_2$ a lieu au niveau des complexes I et II de la chaîne respiratoire, entraînant la libération d'électrons (e^-). Ces électrons sont ensuite transférés de manière séquentielle à travers les complexes III et IV, un processus couplé au pompage des ions H^+ de la matrice mitochondriale vers l'EI. Ce mécanisme génère un gradient électrochimique de protons à travers la MI. Ce gradient constitue une force motrice, appelée force proton-motrice, essentielle à l'activation du complexe V, ou ATP synthase. Ce dernier fonctionne comme une turbine moléculaire, exploitant le retour des protons dans la matrice pour phosphoryler l'ADP en ATP, assurant ainsi une production énergétique efficace. L'ensemble des complexes de la chaîne respiratoire (**Figure 15**) constitue le siège de la respiration mitochondriale (Vercellino and Sazanov, 2022).

Ce processus permet une production continue d'ATP. Toutefois, le transport et l'oxydation des substrats pour fournir la chaîne respiratoire est énergétiquement coûteux en ATP. Pour cette raison, une partie de l'ATP générée par les voies anaérobies est mobilisée pour amorcer la phosphorylation oxydative et compenser le déficit énergétique induit par des efforts intenses (Barclay, 2017). Pour répondre aux besoins énergétiques, l'apport en substrats est indispensable au fonctionnement des voies métaboliques. C'est pourquoi des mécanismes de stockage sont mis en place afin d'assurer un approvisionnement continu. Toutefois, la simple disponibilité en substrats et l'efficacité de la chaîne respiratoire ne suffisent pas à elles seules à garantir

l'adéquation entre la production et les besoins énergétiques. Cette balance repose sur une régulation fine, intégrant des signaux mécaniques, métaboliques et moléculaires qui coordonnent l'activation des différentes voies énergétiques.

1.4.3.7. Mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation des voies énergétiques

L'activation des filières énergétiques décrites précédemment repose sur une intégration de signaux mécaniques, métaboliques et moléculaires, traduisant une réponse biochimique par plusieurs mécanismes. Parmi eux, l'AMPK (AMP-activated protein kinase) occupe une place centrale en tant que capteur du statut énergétique intracellulaire. Elle est activée lorsque le ratio AMP/ATP ou ADP/ATP augmente, traduisant un déficit énergétique, ou encore par la voie calcique via CaMKKβ (calmodulin-dependent protein kinase kinase β). Une fois activée, l'AMPK stimule la captation de glucose en favorisant la translocation de GLUT4 vers la membrane, active la glycolyse par modulation de la phosphofructokinase-2 et favorise l'oxydation mitochondriale du pyruvate en activant la PDH. Sur le plan lipidique, elle inhibe l'ACC, réduisant ainsi le malonyl-CoA et libérant la CPT1, étape limitante de la β-oxydation (Egan and Zierath, 2013; Hardie, 2011). En parallèle, l'augmentation du calcium intracellulaire lors de la contraction musculaire active les Ca^{2+}/calmoduline-dépendantes kinases (CaMK), qui participent elles aussi à l'activation de PDH et à l'induction du coactivateur transcriptionnel PGC1α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha). Ce dernier joue un rôle majeur dans les adaptations à l'entraînement, en stimulant la biogenèse mitochondriale et l'expression des enzymes oxydatives impliquées dans le métabolisme glucidique et lipidique (Scarpulla et al., 2012).

Les récepteurs nucléaires PPAR-α et PPAR-δ (peroxisome proliferator-activated receptors) contribuent également à la régulation à long terme en induisant l'expression des transporteurs d'acides gras (CD36) et des enzymes de la β-oxydation, agissant en synergie avec PGC1α pour optimiser l'utilisation lipidique (Finck and Kelly, 2006). Ainsi, la performance et les adaptations musculaires à l'exercice résultent d'une coordination dynamique entre senseurs énergétiques (AMPK), senseurs calciques (CaMK) et régulateurs transcriptionnels (PGC-1α, PPARs), garantissant non seulement l'efficacité immédiate de la production d'ATP, mais aussi la plasticité métabolique à plus long terme. Cependant, l'efficacité de ces mécanismes de régulation dépend étroitement de la disponibilité des substrats énergétiques. En effet, pour soutenir la production d'ATP et permettre les adaptations musculaires, le métabolisme doit

mobiliser des substrats issus de l'alimentation, mais aussi s'appuyer sur des réserves intracellulaires stockées.

1.4.4. Stockage des substrats énergétiques impliqués dans la production d'énergie

Les substrats énergétiques utilisés dans les voies métaboliques peuvent provenir de l'alimentation pour un usage immédiat ou être stockés dans les muscles sous forme de glycogène pour le glucose et sous forme de TG pour les acides gras.

Le métabolisme du glycogène : synthèse et dégradation

Le glucose est un monosaccharide ($C_6H_{12}O_6$) directement utilisable par les cellules. En revanche, le glycogène $(C_6H_{10}O_5)_n$, un polysaccharide, est la forme de stockage du glucose dans les muscles squelettiques (Kanungo et al., 2018). Le glucose est transformé en glycogène par la glycogène synthase (**Figure 16**), codée par le gène Gys1 (Katz, 2022). Plus précisément, le glucose est d'abord phosphorylé par une hexokinase dans le muscle, en consommant une molécule d'ATP, ce qui donne du glucose-6-phosphate comme décrit dans la **Figure 16**.

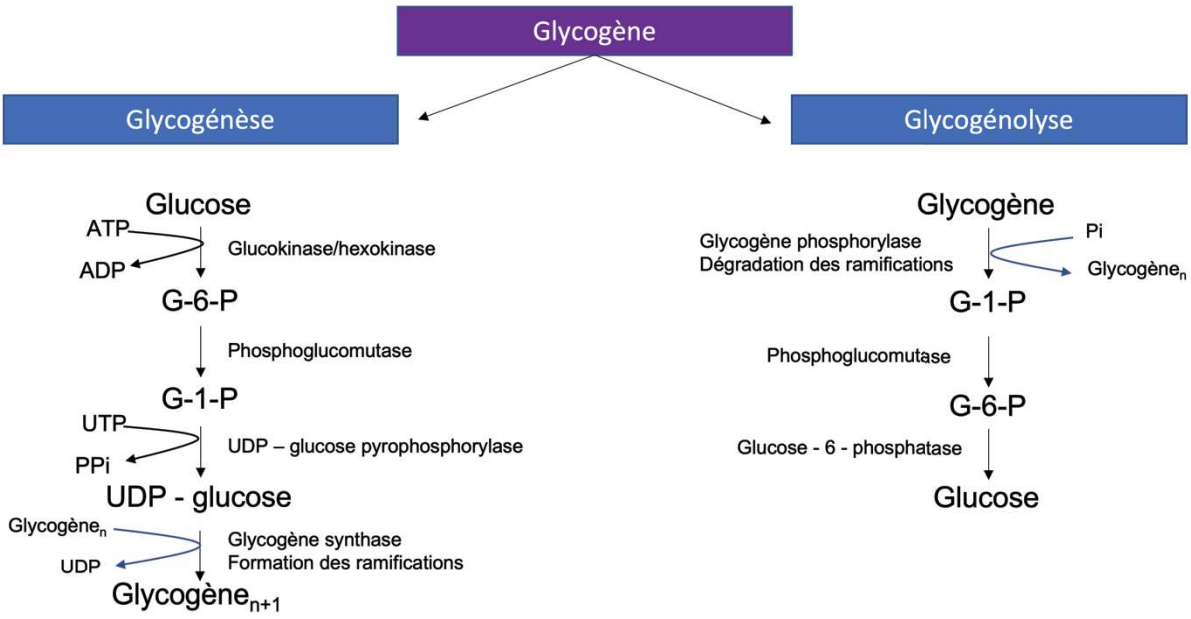


Figure 16 : Métabolisme du glycogène. G1P : glucose-1-phosphate ; G6P : glucose-6-phosphate ; UDP : uridine diphosphate ; Pi : phosphate inorganique ; UTP : uridine triphosphate ; PPi : pyrophosphate inorganique

Il a été démontré que des concentrations élevées de glucose-6-phosphate suffisent à activer la glycogène synthase, favorisant ainsi la synthèse du glycogène (Villar-Palasí and Guinovart, 1997).

A l'inverse la dégradation du glycogène musculaire est appelée la glycogénolyse (**Figure 16**). Ce processus produit du glucose-1-phosphate grâce à la glycogène phosphorylase. Le glucose-1-phosphate est ensuite converti en glucose-6-phosphate par la phosphoglucomutase. Le glucose-6-phosphate, sous cette forme phosphorylée, ne peut pas être libéré de la cellule musculaire. Il est oxydé lors de la glycolyse pour former du pyruvate, qui peut ensuite être converti en lactate. Ce lactate peut être transporté vers le sang, puis être reconverti en glucose par le foie ou être utilisé comme substrat par d'autres tissus (Daghlas and Mohiuddin, 2024).

Origine, structure et métabolisme des acides gras et des triglycérides dans le muscle squelettique

L'origine des acides gras peut être endogène ou exogène. Lorsqu'ils sont d'origine endogène, ils sont synthétisés par le foie *via* la lipogénèse *de novo* (DNL) (décrite dans la partie 2.2.3). En revanche, s'ils sont d'origine exogène, ils proviennent directement de l'alimentation.

Les acides gras constituent les unités de base de nombreux lipides biologiques, comme les mono-, di- et triglycérides, ainsi que les PL (Pateiro et al., 2019). Les acides gras sont constitués d'une chaîne aliphatique d'atomes de carbones (4 à 36 atomes de carbone) et possèdent une fonction carboxylique terminale hydrophile. Ils peuvent être saturés (absence de double liaison) ou insaturés (un à six doubles liaisons) (O'Keefe, 2002; Pateiro et al., 2019).

Les acides gras saturés sont constitués d'une chaîne aliphatique hydrocarbonée avec, le plus souvent, un nombre pair d'atome de carbone (de 4 à 36) et ne possèdent pas d'insaturations. Leur nom chimique est issu de l'hydrocarbure saturé possédant le même nombre de carbones. Un acide gras saturé à 16 atomes de carbone sera nommé « acide hexadécanoïque » (nom chimique) ou acide palmitique ou C16:0 (O'Keefe, 2002).

Les acides gras insaturés possèdent généralement une à six doubles liaisons. Ils peuvent être monoinsaturés (AGMI) ou polyinsaturés (AGPI) (O'Keefe, 2002; Pateiro et al., 2019). Il existe deux nomenclatures permettant l'écriture des acides gras : la nomenclature systématique ou chimique et la nomenclature usuelle (**Figure 17**).

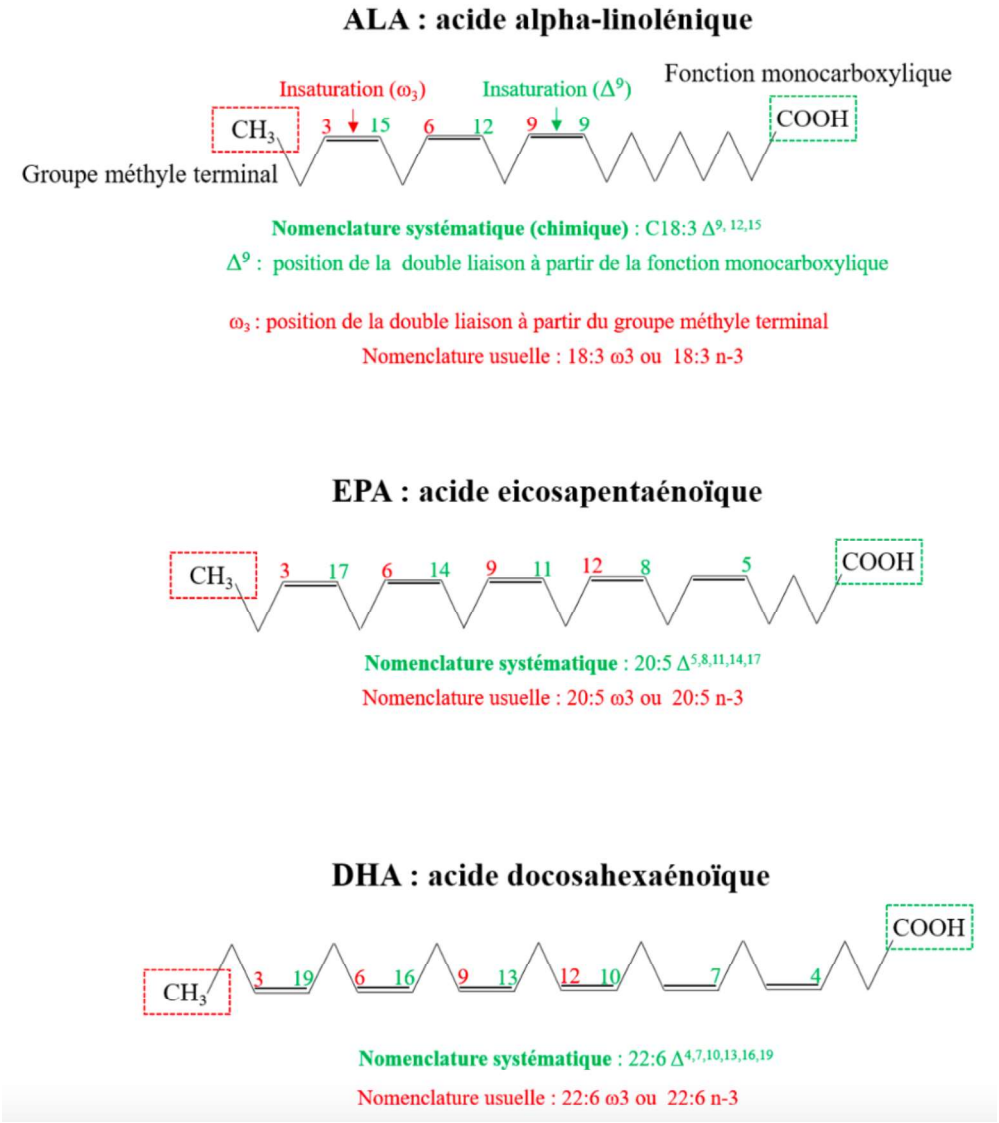


Figure 17 : Exemple de formule chimique de trois acides gras (série n-3) et leurs nomenclatures (Mayer, 2019)

La nomenclature systématique ou chimique permet d'écrire l'acide gras de la façon suivante : C_n:x $\Delta_{y,z}$ où C_n est le nombre de d'atomes de carbone, x le nombre de doubles liaisons et $\Delta_{y,z}$ la position des doubles liaisons à partir du groupement carboxylique terminal (-COOH) précédé du symbole Δ (O'Keefe, 2002).

L'écriture de l'acide gras dans la nomenclature usuelle est la suivante : C_n:x ω_y (ou n-y) où C_n représente le nombre de d'atomes de carbone, x le nombre de doubles liaisons et ωy (ou n-y) la position de la première double liaison comptabilisée à partir du groupement méthyle terminal (-CH_3) précédé de ω ou n-. Dans cette nomenclature usuelle, quatre familles d'AGPI sont différenciées : les familles ω3, ω6, ω7 et ω9. L'acide gras porte un nom usuel, par exemple le C18:3ω3 ou C18:3n-3 est appelé alpha linolenic acid (ALA) (O'Keefe, 2002).

L'ensemble de ces acides gras circule dans le plasma sanguin sous forme d'AGL ou acides gras non estérifiés (AGNE) liés à l'albumine, une protéine produite par le foie et représentant environ 50 % des protéines plasmatiques (Garcia-Martinez et al., 2013). L'un des rôles de l'albumine est d'augmenter l'affinité des AGL pour faciliter leur captation par les cellules. Une des formes de réserve des acides gras est lorsqu'ils sont estérifiés avec une molécule de glycérol, pour former un TG (**Figure 18**) (O'Keefe, 2002). Les TG constituent la principale forme de stockage des lipides comme dans les tissus adipeux et peuvent être mobilisés en cas de besoin énergétique (Qiu et al., 2023).

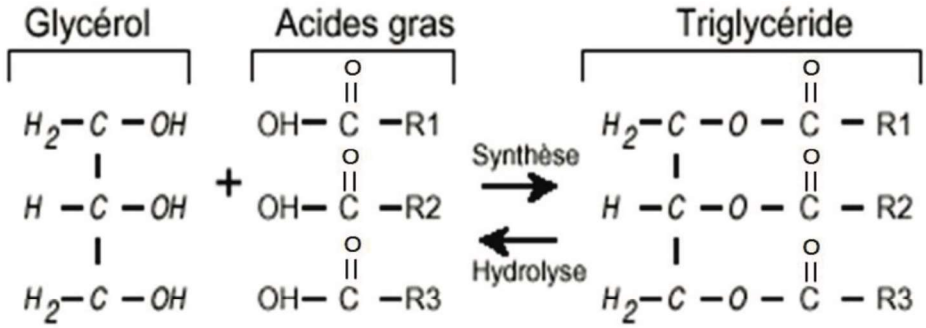


Figure 18 : Synthèse et hydrolyse des triglycérides à partir du glycérol et des acides gras (Dancer, 2017). R1, R2 et R3 sont des chaînes carbonées de longueur et de saturation variables

La synthèse des TG, ou lipogenèse, est issue des étapes de la glycolyse et s'effectue en plusieurs étapes (**Figure 19**).

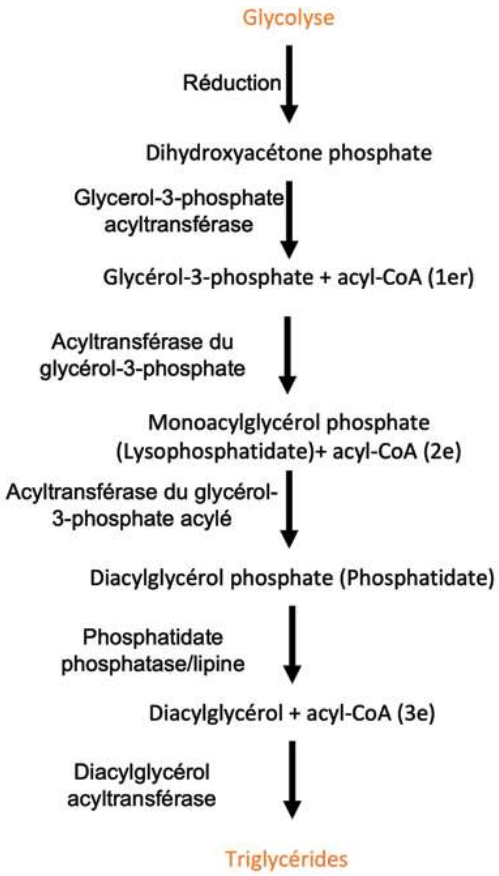


Figure 19 : Étape de la lipogenèse des triglycérides

Le glycérol-3-phosphate est formé à partir de la glycolyse par réduction du dihydroxyacétone phosphate. Ensuite, un premier acyl-CoA est transféré au glycérol-3-phosphate par la glycerol-3-phosphate acyltransférase pour former le monoacylglycérol phosphate (lysophosphatidate). Puis, un second acyl-CoA est ajouté par l'acylglycerol-3-phosphate acyltransférase, produisant le diacylglycérol phosphate (phosphatidate). Après déphosphorylation du phosphatidate par la phosphatidate phosphatase, le diacylglycérol est converti en TG par la diacylglycérol acyltransférase, qui catalyse l'ajout du troisième acyl-CoA.

Les IMTG (intramuscular triglycerides) produits sont stockés sous forme de gouttelettes lipidiques entre les fibres musculaires ou à proximité du sarcolemme, servant de réserve d'énergie mobilisable lors de l'exercice ou d'un jeûne (Bosma, 2016; Moro et al., 2008). Dans des conditions physiologiques, la lipogenèse est peu active et les IMTG ne sont pas observés en grande quantité dans les muscles car les AGL sont issus des TG stockés dans les tissus adipeux ou le foie. Ces TG sont hydrolysés par la lipase hormono-sensible dans les adipocytes, afin de libérer les AGL dans le flux sanguin. De plus, la quantité d'IMTG est dépendante du type de fibre musculaire et de leur métabolisme respectif (Gorski, 1992; Kelley, 2002). Les

fibres de type I, en raison de leur plus grande capacité à oxyder les acides gras, sont capables de stocker davantage de TG que les fibres IIa et IIb (Liu et al., 2009).
Afin de comprendre les mécanismes de lipogenèse musculaire, l'utilisation d'un modèle musculaire cellulaire humain d'hyperglycémie chronique a montré que la lipogenèse pouvait être stimulée grâce à une augmentation de l'activité de la diacylglycérol acyltransférase, conduisant à une accumulation d'IMTG. Ainsi, des concentrations élevées en glucose dans le muscle sont associées à une accumulation d'IMTG et ceci, sans apport alimentaire d'acides gras, ce qui suggère que les muscles peuvent synthétiser une partie des TG accumulés au cours d'une hyperglycémie (Aas et al., 2004).

Les mécanismes de stockage énergétique permettent de répondre aux besoins en ATP nécessaires et maintenir la fonction musculaire. Toutefois, ces processus, dont ceux impliquant la chaîne respiratoire mitochondriale *via* le transport d'électrons, conduisent à la formation d'ERO, pouvant induire un stress oxydant.

1.4.5. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Les mitochondries sont une des origines de la production d'ERO qui comprennent des radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$), ainsi que les oxydants non radicalaires, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène (O_2) (Halliwell and Chirico, 1993), participant à divers processus cellulaires (Zorov et al., 2014). Toutefois, ces ERO peuvent devenir des radicaux libres par la réaction de Fenton, notamment lorsque l'H_2O_2 réagit avec l'hydroxyde de fer (II), produisant ainsi le HO• (Lin et al., 2025; Winterbourn, 1995). Par ailleurs, l'oxyde nitrique (NO), produit dans les cellules endothéliales par l'oxyde nitrique synthase endothéliale à partir de l'acide aminé L-arginine (Moncada and Higgs, 1993), joue un rôle central dans la régulation du tonus vasculaire en induisant la vasodilatation des vaisseaux sanguins. Au niveau musculaire, le NO peut moduler la fonction contractile, avec des effets qui dépendent de sa concentration : à faibles concentration, il favorise la perfusion et l'oxygénation musculaire, alors qu'à concentrations élevées, il peut altérer l'efficacité contractile par des interactions avec les systèmes oxydatifs et nitrosatifs. (Ferreira and Reid, 2008; R. Kumar et al., 2022). En effet, lorsqu'il réagit avec le $O_2^{\bullet-}$, il forme du peroxynitrite (ONOO-), un puissant oxydant pouvant interagir avec d'autres molécules stables (Lian et al., 2022). En général, les ERO et espèces réactives de l'azote (ERA) sont régulées par des enzymes antioxydantes, permettant des effets bénéfiques sur les adaptations musculaires en conditions physiologiques

(Scicchitano et al., 2018). Cependant, ces espèces peuvent être à l'origine d'un stress oxydant qui a dernièrement été défini comme un déséquilibre dynamique entre la production des ERO-ERA et la capacité biologique des systèmes antioxydants à les neutraliser, conduisant à une modification des fonctions cellulaires et des dommages biomoléculaires, mais également à une altération des voies de signalisation redox régulatrices (Sies, 2017). Ce stress oxydant peut entraîner des dommages aux protéines, aux membranes lipidiques et à l'ADN (Hamanaka and Chandel, 2010). Dans le muscle squelettique, en particulier lors d'une sollicitation, les principales sources d'ERO et d'ERA sont les mitochondries, la xanthine oxydase et les NADPH oxydases (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase). Ces systèmes enzymatiques contribuent à la majorité de la production oxydante observée dans le tissu musculaire au cours de l'exercice, modulant à la fois la signalisation cellulaire et le stress oxydatif (Di Meo et al., 2016).

Dans la mitochondrie, plusieurs sites de production d'ERO ont été identifiés, notamment au niveau des complexes de la chaîne respiratoire. Bien que les complexes II et III soient impliqués, le complexe I est reconnu comme la principale source d'ERO.

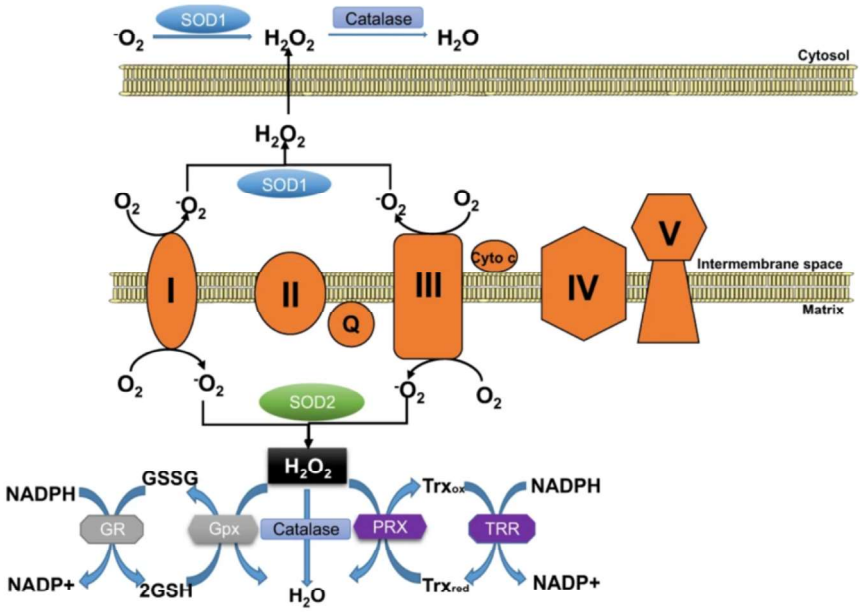


Figure 20 : Production des espèces réactives de l'oxygène mitochondriales et enzymes anti-oxydantes (Peoples et al., 2019). SOD1 : superoxide dismutase 1 ; SOD2 : superoxide dismutase 2 ; H_2O_2 : hydrogen peroxide ; O_2^- : superoxide anion ; Q: coenzyme Q (or ubiquinone, electron carrier in the respiratory chain) ; Cyto c : cytochrome c ; PRX : peroxiredoxin ; TRR : thioredoxin reductase ; $Trx^{(red)}$: reduced thioredoxin ; $Trx^{(ox)}$: oxidized thioredoxin ; Gpx : glutathione peroxidase ; GR : glutathione reductase ; GSH : reduced glutathione (active form) ; GSSG : oxidized glutathione ; NADPH : reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ; $NADP^+$: oxidized nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

Les anions superoxydes générés dans la matrice mitochondriale sont rapidement dismutés en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la superoxyde dismutase (SOD). La présence d'ions métalliques, en particulier le manganèse dans la matrice mitochondriale ou encore le cuivre et le zinc dans l'EI, est indispensable en tant que cofacteur pour l'activité enzymatique (Bharati and Shetty, 2022). L'augmentation des ERO aux niveaux des mitochondries a été considérée comme le principal lieu de formation des ERO, en raison de la hausse de la consommation d'oxygène liée à l'activité musculaire. Cependant, cette idée repose sur une mauvaise interprétation des données car la proportion d'oxygène consommée transformée en H_2O_2 par les mitochondries est d'environ 2 % seulement au repos, et diminue à environ un dixième lors de l'état actif de production d'ATP (Chance et al., 1979). Par conséquent, le rôle prédominant des mitochondries dans la production de ERO pendant l'exercice mérite d'être réévalué, et d'autres sources extracellulaires ont été identifiées.

Parmi celles-ci, la xanthine oxydase apparaît comme une source majeure de superoxyde généré durant l'exercice. Elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en urate, produisant du superoxyde en utilisant l'oxygène moléculaire (Harris et al., 1999). Son hyperactivité entraîne une production excessive d'acide urique, ainsi qu'un stress oxydatif, dû à la génération importante de radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet -}$) (Era et al., 2020; Zhang et al., 2022). Des études chez l'animal et chez l'humain avec des cyclistes professionnels et des marathoniens ont montré que l'inhibition de la xanthine oxydase par l'allopurinol limite les marqueurs d'oxydation cellulaire et les dommages musculaires induits par l'effort intense (Gomez-Cabrera et al., 2006; Gómez-Cabrera et al., 2003; Viña et al., 2000). De plus, la xanthine oxydase contribue à la production d'ERO lors d'exercices anaérobies et de résistance (Viña et al., 2000). Toutefois d'autres ont suggéré que réduire l'activité de la xanthine oxydase n'améliore pas les adaptations musculaires après un exercice, mettant en évidence le rôle essentiel des ERO dans ces processus (Gomez-Cabrera et al., 2005).

La NADPH oxydase est un autre complexe responsable de la production de $O_2^{\bullet -}$, qui sera converti par la suite en H_2O_2 (Ferreira and Laitano, 2016; Sullivan-Gunn et al., 2011). Elle est une source majeure d'ERO dans le muscle squelettique pendant l'exercice. L'activation de la NADPH oxydase est déclenchée notamment par des stimuli mécaniques et calciques associés à l'effort, ce qui en fait un acteur clé dans la signalisation redox musculaire (Ferreira and Laitano, 2016). Que le muscle soit au repos ou en contraction, les protéines de la famille de la NADPH oxydase peuvent produire plus d'anions superoxydes que les mitochondries dans les fibres musculaires (Sakellariou et al., 2013). De plus, le modèle où la NADPH oxydase a été inhibée

a indiqué qu'elle pourrait être la principale source de d'ERO cytosoliques dans les muscles squelettiques pendant un exercice d'intensité modérée (Henríquez-Olguin et al., 2019).
Ainsi, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase suggèrent que, même lors de l'effort, les ERO produits par les mitochondries ne constituent pas la source principale des molécules pro-oxydantes à l'origine d'un stress oxydant. Bien que les ERO soient souvent considérés comme délétères, il est aujourd'hui reconnu qu'à faibles concentrations, ces espèces jouent un rôle physiologique essentiel dans la signalisation cellulaire et l'adaptation musculaire à l'exercice. En effet, les cellules possèdent des systèmes antioxydants endogènes efficaces (décrit dans la partie suivante) qui permettent de gérer la production « optimale » d'ERO. L'exposition répétée à de faibles niveaux d'ERO induit l'expression de ces enzymes antioxydantes via un phénomène de « hormèse », où une faible dose stimule la défense cellulaire alors qu'une dose élevée devient délétère (Calabrese and Baldwin, 2003; Radak et al., 2005). Par exemple, une faible concentration de peroxyde d'hydrogène augmente la libération de calcium du réticulum sarcoplasmique et améliore la force musculaire, alors qu'une concentration élevée réduit fortement la force (Andrade et al., 2001). Lorsque que la dose est optimale, il a été montré que H_2O_2 était impliqué dans les adaptations musculaires en activant des voies de signalisation telles que p38 MAPK, NF-κB (nuclear factor kappa B) (Jackson et al., 2020) et PGC1α (Gomez-Cabrera et al., 2015; St-Pierre et al., 2006). Afin de réguler ces espèces réactives et limiter le stress oxydatif, des mécanismes antioxydants endogènes, au-delà de ceux liés aux mitochondries, sont activés afin d'assurer une régulation fine et équilibrée.

1.4.6. Systèmes antioxydants des espèces réactives

Les espèces produites (ERO et ERA) sont ensuite converties par des systèmes antioxydants, principalement la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT) (Murphy, 2009) (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). Ces enzymes (SOD, GPx et CAT) sont régulées par des séquences génétiques appelées ARE (antioxidant response elements), qui sont activées sous le contrôle de Nrf2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2). Ce dernier est régulé négativement par la protéine associée à Keap1 (Elch-like Ech associated protein 1), qui favorise l'ubiquitination et donc la dégradation de Nrf2. En réponse, un renouvellement rapide et constant de Nrf2 est activé (**Figure 21**) (McMahon et al., 2003)

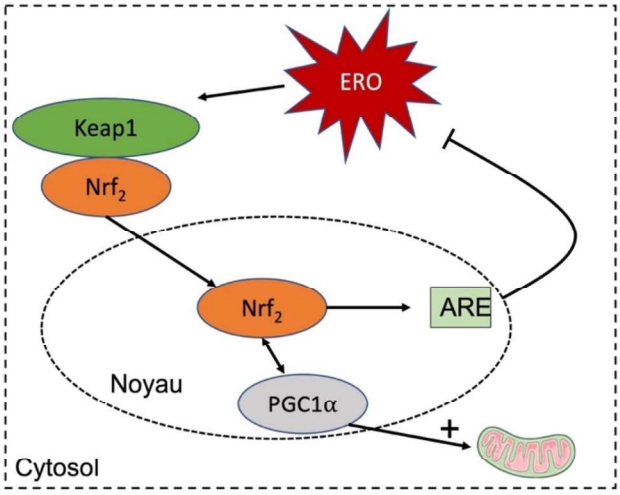


Figure 21 : Régulation des espèces réactives de l'oxygène. Keap1 : kelch-like ech-associated protein 1; Nrf2 : nuclear factor erythroid 2-related factor 2 ; ARE : antioxidant response element ; PGC1α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha ; ERO : espèces réactives de l'oxygène

Les ERO induisent l'oxydation des cystéines 273 et 288 de Keap1, ce qui provoque la dissociation du complexe Nrf2-Keap1 (Zhang and Hannink, 2003). Cette libération empêche la dégradation de Nrf2 par le protéasome et lui permet de migrer vers le noyau, où il active les ARE et stimule la biogenèse mitochondriale (Merry and Ristow, 2016). De plus, il a été suggéré que les ERO pouvaient activer PGC1α, lequel régule à son tour l'activité de Nrf2, conduisant ainsi à la modulation de ces molécules oxydantes (Wright et al., 2007; Wu et al., 1999).

D'autres antioxydants non enzymatiques peuvent participer à la diminution des ERO mitochondriaux comme les vitamines C et E (Birben et al., 2012) et le glutathion réduit (GSH) (Rudenko et al., 2023). Le GSH est principalement synthétisé dans le foie avant d'être distribué aux autres tissus (Lu, 2013). Son mode d'action repose sur son oxydation en glutathion oxydé (GSSG), suivie de sa régénération en GSH grâce à la NADPH, assurant ainsi son rôle protecteur (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). De plus, le GSH est majoritairement localisé autour des mitochondries, ce qui explique sa plus grande concentration dans les fibres musculaires de type I par rapport aux fibres de type II (Leeuwenburgh et al., 1997). Il réagit directement avec les ERO, sert de substrat aux enzymes antioxydantes comme la GPx et contribue à la régénération des vitamines C et E, c'est-à-dire leur conversion de la forme oxydée en forme réduite, ce qui leur permet de retrouver leur capacité antioxydante (Pizzorno, 2014). La vitamine C (acide L-ascorbique) est hydrosoluble et protège contre l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires. Elle participe également à la régénération de la vitamine E et du GSH (Fisher-Wellman et al., 2009). Enfin, la vitamine E est liposoluble et se trouve principalement sous forme d'α-tocophérol. Elle neutralise les ERO dans les membranes cellulaires, notamment celles des mitochondries (Traber, 2007).

L'utilisation de compléments alimentaires antioxydants est controversée et montre souvent des effets délétères sur la performance et les adaptations à l'entraînement. Par exemple, la vitamine E, la vitamine C ou l'ubiquinone-10 n'ont pas amélioré la performance musculaire dans divers modèles et, au contraire, ont parfois ralenti la récupération ou réduit les gains de capacité aérobie (Gomez-Cabrera et al., 2008). En revanche, certains donneurs de cystéine, comme la N-acétylcystéine, favorisent la synthèse du glutathion endogène et améliorent la tolérance à l'exercice. Des travaux récents confirment que la supplémentation en vitamine C peut diminuer significativement l'augmentation du $\dot{V}O_2max$ et la capacité à maintenir un effort aérobie (Gomez-Cabrera et al., 2008).

En résumé, les ERO et ERA produits durant l'exercice proviennent de multiples sources, dont la xanthine oxydase, la NADPH oxydase et, dans une moindre mesure, les mitochondries. Ces espèces jouent un double rôle : à fortes concentrations, elles causent des dommages cellulaires, mais à faibles concentrations, elles agissent comme des signaux essentiels pour l'activation des mécanismes d'adaptation musculaire, via l'induction d'enzymes antioxydantes et de voies de signalisation spécifiques, telles que NF-κB et MAPKs. Cette compréhension nuance le rôle des ERO/ERA dans l'exercice, mettant en lumière l'importance d'un équilibre délicat entre production et neutralisation pour optimiser la santé et la performance musculaire.

Pour conclure ce chapitre, le muscle squelettique doit maintenir un niveau constant d'ATP, il mobilise plusieurs voies métaboliques, selon l'intensité et la durée de la demande. Ces processus bioénergétiques s'accompagnent par la production d'ERO et ERA, dont les effets peuvent être bénéfiques ou délétères selon l'état du système antioxydant cellulaire. Par ailleurs, le muscle exerce une fonction endocrine, notamment en sécrétant dans la circulation sanguine des myokines telles que l'interleukine-6 (IL-6), ainsi que des métabolites comme le lactate. Ces molécules jouent un rôle central dans la communication inter-organes, notamment avec le foie. Ce dernier agit comme un organe métabolique capable d'ajuster la disponibilité des substrats énergétiques en fonction des besoins systémiques, notamment par la glycogénolyse, la néoglucogenèse ou encore la cétogenèse. L'interaction fonctionnelle entre le muscle et le foie constitue ainsi un élément clé du maintien de l'homéostasie énergétique, que ce soit au repos, lors de l'exercice, en période de jeûne ou après un apport alimentaire.

2. Les fonctions hépatiques

Le foie est l'un des organes les plus volumineux du corps humain. Situé dans la cavité abdominale sous le diaphragme, dans l'hypochondre droit, il est divisé en plusieurs lobes (droit, gauche, caudé et carré), il est constitué d'unités fonctionnelles appelées lobules hépatiques (Sumadewi, 2023). Il reçoit un double apport sanguin : le sang oxygéné *via* l'artère hépatique et le sang riche en nutriments *via* la veine porte hépatique (**Figure 22A).**

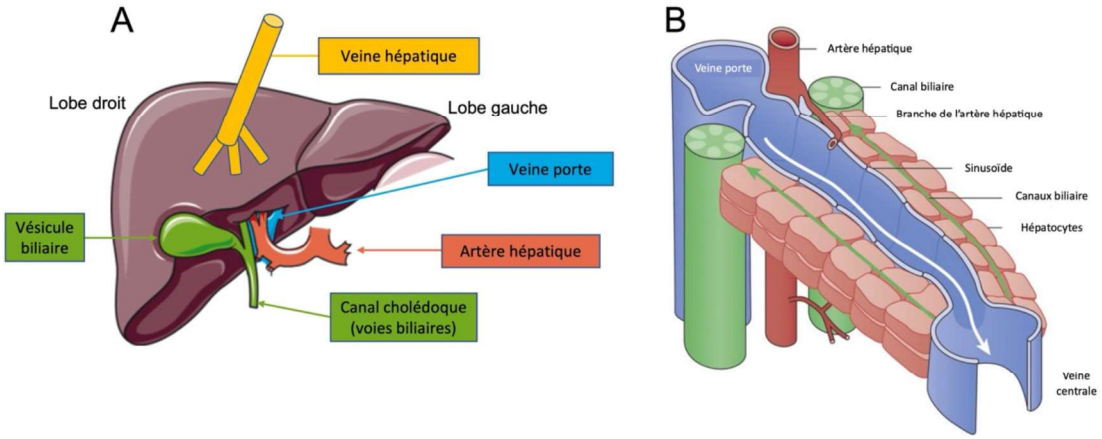


Figure 22 : Circulation biliaire et sanguine hépatique (A) et organisation des hépatocytes (B) (forme adaptée de Schulze et al., 2019)

La veine hépatique transporte, du foie vers le cœur, le sang appauvri en oxygène ainsi que les produits du métabolisme hépatique. Chez l'adulte, son poids représente environ 2 % de la masse corporelle totale (Kalra et al., 2025). Les hépatocytes, qui constituent environ 80 % de la masse cellulaire hépatique (Blouin et al., 1977), assurent la majorité des fonctions du foie. Ils sont organisés en rangées monocellulaires (Schulze et al., 2019) formant des cordons hépatocellulaires structurés en lobules hexagonaux centrés autour d'une veine centrale, permettant un drainage sanguin efficace (**Figure 22B**). Cette organisation, associée au système porte hépatique, place les hépatocytes au premier contact avec les substances absorbées par l'intestin, leur conférant un rôle clé dans la gestion, le stockage et la transformation des nutriments ainsi que la détoxification des composés potentiellement nocifs (Tennant, 1997). Les hépatocytes sécrètent la bile qui est composée d'eau, d'électrolytes, de sels et acides biliaires, de cholestérol, de pigments biliaires, de bilirubine et de PL. Celle-ci est libérée à partir de leur membrane apicale dans les canalicules biliaires (Kalra et al., 2025). Elle emprunte ensuite le réseau de l'arbre biliaire intrahépatique avant d'être transportée vers le duodénum ou

stockée dans la vésicule biliaire jusqu'à sa libération lors de la digestion. Son rôle est essentiel dans l'émulsification des graisses, facilitant ainsi leur absorption (Kalra et al., 2025). Le foie intervient également dans le stockage des vitamines A, D, E, K, B12, ainsi que de certains oligo-éléments comme le fer et le cuivre, qu'il libère selon les besoins de l'organisme. Une autre de ses fonctions majeures est sa capacité de régénération, permettant de restaurer son intégrité fonctionnelle après une lésion, que ce soit à la suite d'une ablation partielle ou d'une exposition à des toxines. Cette régénération repose sur la prolifération des hépatocytes par mitose (Michalopoulos and Bhushan, 2021). Le foie assure également le métabolisme des xénobiotiques grâce à un processus de biotransformation en trois phases (Aronica et al., 2022). La phase I, réalisée principalement par les enzymes du cytochrome P450, consiste en des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse, rendant les composés plus réactifs. La phase II repose sur des réactions de conjugaison avec des molécules comme l'acide glucuronique, le glutathion ou l'ion sulfate, augmentant leur hydrophilie pour faciliter leur excrétion par la bile ou le sang. Enfin, la phase III correspond aux mécanismes de transport actif des métabolites hors des cellules hépatiques. Cette étape mobilise des protéines de transport membranaire, telles que la P-glycoprotéine, permettant l'élimination finale des composés conjugués dans la bile ou les urines.

Le foie joue également un rôle dans la conversion de l'hormone thyroïdienne comme par exemple la thyroxine (T4) en triiodothyronine (T3), permis par un processus de déiodination (Bruinstroop et al., 2023). De plus, il est impliqué dans la synthèse des principales protéines plasmatiques, comme l'albumine, les globulines de liaison (impliquées dans le transport des hormones), la protéine C et S (anticoagulante), ainsi que l'ensemble des facteurs de coagulation des voies intrinsèque et extrinsèque, à l'exception du facteur VIII (Kalra et al., 2025). L'ensemble de ces fonctions et mécanismes hépatiques ne vont pas être détaillés dans la suite de ce travail. Seules les fonctions du métabolisme hépatique des glucides en lien avec l'apport aux muscles squelettiques seront approfondies. De plus, le métabolisme des lipides, et plus particulièrement la synthèse et composition des acides gras hépatiques, feront également l'objet d'une description détaillée.

2.1. Métabolisme des glucides hépatiques

Tous les glucides complexes subissent une digestion, puis sont absorbés dans l'intestin avant d'être libérés dans le sang sous forme de glucose (Gray, 1970). Le processus de conversion des glucides en glycogène dans le foie est similaire à celui du muscle squelettique, si ce n'est que

dans foie, le glucose est transformé en glucose-6-phosphate par la glucokinase et non l'hexokinase (**Figure 16**) (Jequier, 1994).
Contrairement aux muscles, le foie possède la capacité de relargage du glucose dans le sang, jouant ainsi un rôle crucial dans la régulation de la glycémie, elle-même influencée par le statut nutritionnel. Cette capacité à libérer du glucose dans le sang est rendue possible grâce à la présence de l'enzyme glucose-6-phosphatase dans le tissu hépatique (Trefts et al., 2017).

2.1.1. Régulation de la production hépatique de glucose en état de jeûne

En période de jeûne, le foie ajuste son métabolisme pour fournir un apport énergétique constant à l'organisme. Il dégrade le glycogène stocké pour produire du glucose *via* la glycogène phosphorylase, un processus appelé glycogénolyse, qui permet d'approvisionner en glucose les autres tissus, notamment le cerveau. Ce mécanisme est régulé par les hormones sécrétées par le pancréas, le glucagon activant la glycogénolyse. Le glucagon se lie à son récepteur hépatique, activant l'AMPc (cyclic adenosine monophosphate) et la protéine kinase A, ce qui entraîne la phosphorylation et l'activation de la glycogène phosphorylase. Cela favorise la libération de glucose dans le sang, contribuant ainsi au maintien de l'homéostasie glycémique (Han et al., 2016).
Lorsque le jeûne se prolonge ou que les réserves de glycogène s'épuisent, la gluconéogenèse hépatique devient la principale source de production de glucose pour approvisionner les autres tissus. Ce processus utilise des précurseurs tels que le glycérol, le lactate ou certains acides aminés, notamment l'alanine issue du catabolisme musculaire, qui sont convertis en pyruvate, un intermédiaire central de cette voie métabolique (**Figure 23**). Le pyruvate est transformé en oxaloacétate dans les mitochondries par carboxylation, un processus favorisé par des concentrations élevées d'acétyl-CoA résultant de la β-oxydation des acides gras hépatiques (Jitrapakdee et al., 2008).

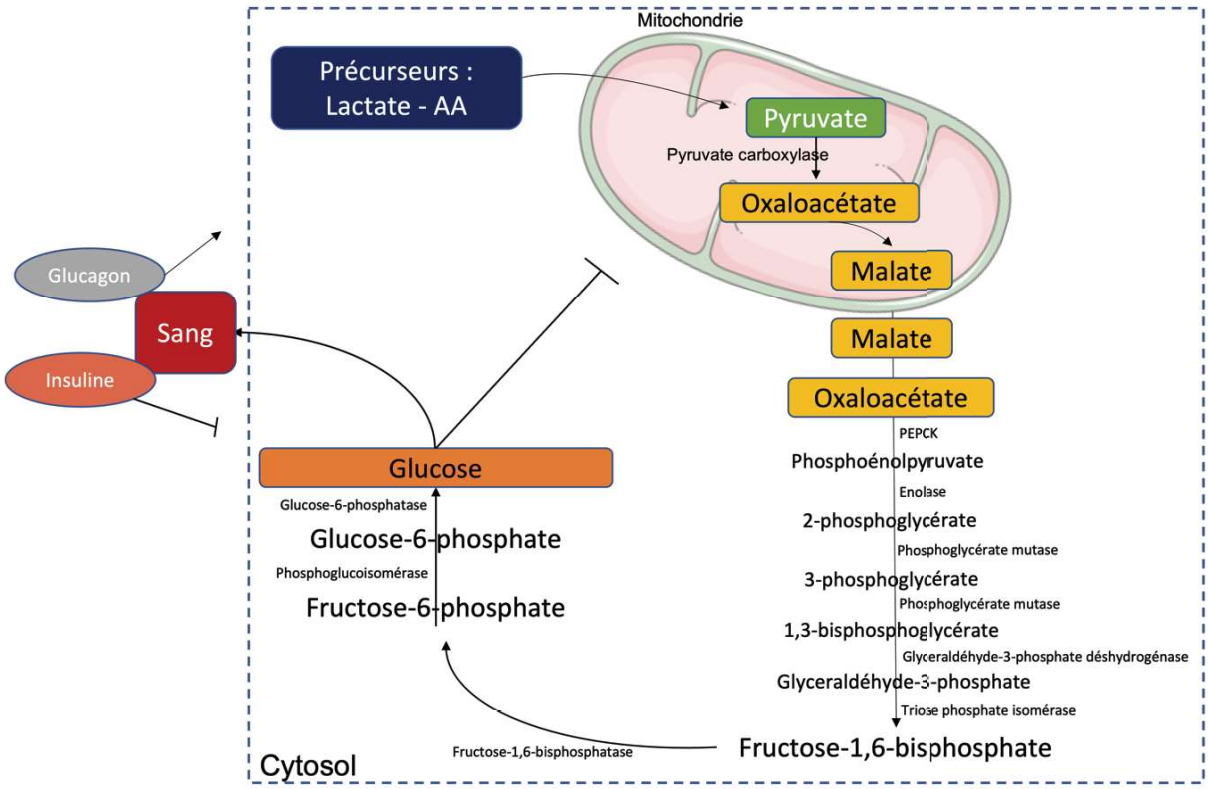


Figure 23 : La gluconéogenèse hépatique. AA : amino acids ; PEPCK : phosphoenolpyruvate carboxykinase

L'oxaloacétate est ensuite transporté sous forme de malate vers le cytoplasme où il est reconverti en oxaloacétate avant d'être transformé en phosphoénolpyruvate par la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), une enzyme clé dont l'expression est augmentée par le glucagon et diminuée par l'insuline (Zhang et al., 2019). Le fructose-1,6-bisphosphatase catalyse ensuite la conversion du fructose-1,6-bisphosphate en fructose-6-phosphate, qui est ensuite transformé en glucose-6-phosphate par la phosphoglucoisomérase. Le glucose-6-phosphate peut être utilisé dans d'autres voies métaboliques ou hydrolysé par la glucose-6-phosphatase dans le réticulum endoplasmique pour libérer du glucose dans le sang. Une fois sous sa forme non phosphorylée, le glucose est transporté librement dans la circulation sanguine *via* GLUT2 (Campbell, 2006; Thorens, 2015). Son précurseur, le glucose-6-phosphate, ne peut pas traverser la membrane cellulaire en raison de sa charge négative et de l'absence de transporteur spécifique, ce qui lui confère un rôle régulateur dans l'équilibre du glucose intracellulaire. En effet, il joue un rôle central dans le contrôle de la quantité de glucose disponible pour la gluconéogenèse, la glycolyse et d'autres voies métaboliques. Par exemple, lorsque les niveaux de glucose-6-phosphate augmentent, une inhibition de la production de glucose est déclenchée. Ce processus d'autorégulation signifie que la demande énergétique de la cellule est satisfaite, réduisant ainsi le besoin de produire davantage de glucose. Inversement,

si les niveaux de glucose-6-phosphate sont faibles, cela peut déclencher des mécanismes permettant d'augmenter la production de glucose ou d'utiliser d'autres substrats pour la génération d'énergie. La gluconéogenèse repose sur des réactions irréversibles nécessitant un apport énergétique conséquent, impliquant des enzymes consommatrices d'ATP (6 ATP pour chaque molécule de glucose produite) (Han et al., 2016; Hatting et al., 2018, 2018; Morio et al., 2021).

Si le jeûne se prolonge au-delà de 24 à 48 heures et que les réserves de glycogène sont épuisées, l'organisme mobilise les protéines corporelles pour répondre à ses besoins énergétiques. Les protéines musculaires sont les premières à être dégradées par protéolyse *via* les systèmes ubiquitine protéasome (UPS) et autophagosome-lysosome. Ce processus libère des acides aminés qui servent de substrats à la gluconéogenèse (Schutz, 2011). Outre l'alanine, des acides aminés comme la glutamine, la sérine, la glycine, la cystéine et la thréonine sont convertis en composés qui alimentent le cycle de Krebs, soutenant ainsi la gluconéogenèse (Friedrichs and Schoner, 1974). Cette dégradation des acides aminés constitue le dernier mécanisme par lequel l'organisme répond à ses besoins énergétiques lors d'un jeûne prolongé (Holeček, 2023). À l'inverse, après un repas, le foie modifie son statut métabolique : l'apport alimentaire et l'élévation de la glycémie résultant de l'ingestion de nutriments inhibent les voies de gluconéogenèse et de glycogénolyse, réduisant ainsi la production endogène de glucose.

2.1.2. Transition métabolique en phase postprandiale

Contrairement à la phase de jeûne, en période postprandiale, le foie passe d'un état de production de glucose à une phase de captation et de stockage du glucose. Ce changement est influencé par l'augmentation de la glycémie induite par l'apport alimentaire. Le foie capte alors le glucose grâce au transporteur GLUT2, indépendant de l'insuline mais conditionné par la concentration en glucose sanguin, à la différence des muscles qui utilisent le transporteur GLUT4, dépendant de l'insuline (Adeva-Andany et al., 2016). Ce mécanisme constitue une première régulation de la glycémie. De plus, l'insuline peut également favoriser la glycogénogenèse *via* la glycogène synthase et la voie métabolique phosphatidylinositol 3-kinases/ protéine kinase B (PI3K/Akt) et inhiber la glycogénolyse *via* l'inhibition de la glycogène phosphorylase dans les hépatocytes.

La glycogénèse hépatique, bien que similaire à celle des muscles, présente des spécificités notables. Le foie utilise la glucokinase, une enzyme caractérisée par une faible affinité pour le glucose, mais une capacité élevée à le phosphoryler lorsque sa concentration est importante. De

plus, la glucokinase n'est pas inhibée par le glucose-6-phosphate, ce qui permet au foie de continuer à capter et stocker le glucose même en situation de surcharge. À l'inverse, les muscles utilisent principalement l'hexokinase, une enzyme dotée d'une forte affinité pour le glucose, mais d'une capacité enzymatique plus limitée. L'hexokinase est soumise à une régulation par rétrocontrôle négatif via le glucose-6-phosphate, qui inhibe son activité lorsque les besoins énergétiques du muscle sont satisfaits. Ainsi, le foie le stocke afin de redistribuer le glycogène vers d'autres tissus en fonction des besoins énergétiques, tandis que le muscle synthétise du glycogène pour ses propres besoins (Veerappa and McClure, 2020). Ce mécanisme permet au foie de capter et de stocker efficacement le glucose sous forme de glycogène, rétablissant ainsi les réserves pour les périodes de jeûne (Hatting et al., 2018). La quantité de glycogène hépatique stockée s'adapte aux besoins de l'organisme, notamment ceux des tissus comme le cerveau et les muscles squelettiques (Trefts et al., 2017).

Chez l'Homme, la glycémie varie entre 4 et 6 mM (soit 70 à 110 mg/dL). Son maintien repose sur l'action coordonnée de l'insuline et du glucagon (**Figure 24**).

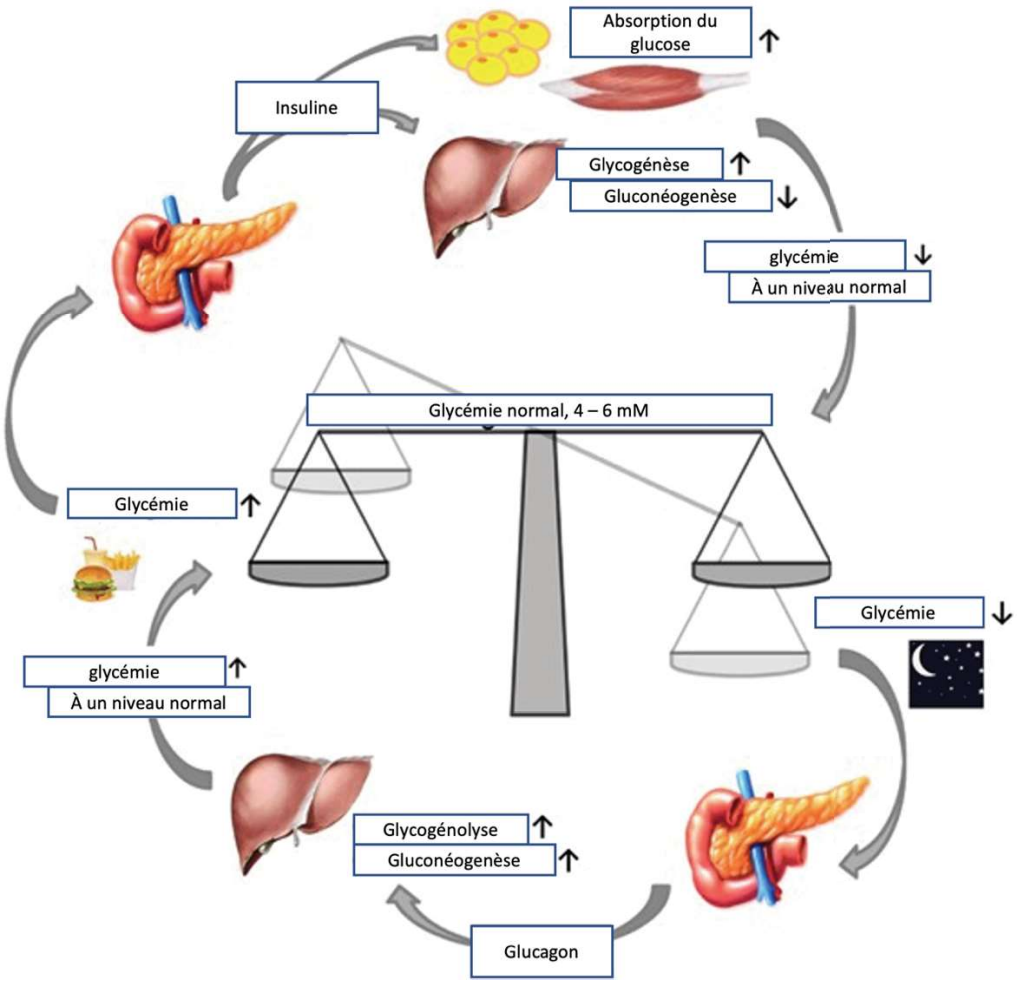


Figure 24 : Rôle de l'insuline et du glucagon dans la régulation de la glycémie (Röder et al., 2016)

Lorsque la glycémie diminue, le pancréas sécrète du glucagon, qui stimule la glycogénolyse dans un premier temps puis la glyconéogenèse si le jeûne se prolonge, afin d'augmenter la production endogène de glucose.
En revanche, après un repas, lorsque la glycémie est élevée, l'insuline est libérée pour favoriser l'absorption du glucose par les muscles et les tissus adipeux insulino-dépendants, ainsi que pour stimuler la glycogénèse hépatique (Röder et al., 2016).
La régulation de la glycémie et le stockage du glucose contribuent également au métabolisme lipidique, notamment par la conversion de l'excès de glucose en acides gras via la lipogenèse, aboutissant à la synthèse de TG.

2.2. Métabolisme des lipides hépatiques

Le métabolisme hépatique des glucides et des lipides est étroitement interconnecté, permettant une adaptation continue aux besoins énergétiques en fonction des apports alimentaires, des réserves énergétiques et de l'action des hormones. En phase postprandiale, lorsque l'apport en glucose est élevé, celui-ci est prioritairement utilisé pour la production d'énergie *via* la glycolyse et le cycle de Krebs, ainsi que pour former les stocks de glycogène. Une fois les réserves de glycogène saturées, l'excès de glucose est converti en acétyl-CoA, un précurseur clé de la lipogenèse. Ce processus aboutit à la synthèse d'acides gras, qui sont ensuite estérifiés en TG et incorporés dans les VLDL (very low-density lipoproteins) avant d'être transportés vers le tissu adipeux pour y être stockés. En revanche, les VLDL ne servent pas uniquement à transporter les TG vers le tissu adipeux pour leur stockage, elles jouent un rôle central dans l'acheminement des lipides, notamment des TG et du cholestérol, vers l'ensemble des organes périphériques, où ils peuvent être utilisés comme source d'énergie ou pour la synthèse de membranes et d'autres composés lipidiques essentiels. En période de jeûne, lorsque les réserves en glycogène s'épuisent, le foie doit maintenir un apport constant en glucose aux tissus glucodépendants tels que le cerveau. Pour ce faire, les TG stockés dans le tissu adipeux sont hydrolysés relarguant du glycérol et des AGL. Le glycérol sert de substrat pour la gluconéogenèse, permettant la production de glucose, tandis que les AGL subissent une β-oxydation dans les mitochondries hépatiques, générant de l'acétyl-CoA et de l'ATP, nécessaires au bon déroulement de la gluconéogenèse.
L'action hormonale joue un rôle essentiel dans la régulation de ces processus : l'insuline, sécrétée après un repas, stimule la lipogenèse et inhibe la lipolyse, tandis que le glucagon, libéré

en période de jeûne, active la lipolyse pour mobiliser les acides gras et favoriser leur utilisation comme source d'énergie. Ainsi, le foie orchestre l'équilibre entre le métabolisme des glucides et des lipides afin d'assurer un approvisionnement énergétique optimal selon les besoins de l'organisme (Leverve, 1999).

L'ensemble de ces mécanismes conduit à la libération par le foie de transporteurs (les lipoprotéines) dans la circulation sanguine, permettant l'acheminement des substrats énergétiques vers des tissus cibles tels que le muscle squelettique, le cerveau ou le tissu adipeux.

2.2.1. Les lipoprotéines plasmatiques

Les lipoprotéines plasmatiques sont principalement synthétisées par le foie et l'intestin. En effet, l'intestin produit des chylomicrons qui transportent les TG exogènes vers les tissus périphériques. Il s'agit des plus grosses lipoprotéines (diamètre > 100 nm), qui transportent principalement des TG, mais aussi divers nutriments lipophiles tels que les vitamines, les AGPI et le cholestérol, afin de les délivrer aux différents tissus. De façon simplifiée, les TG issus des chylomicrons peuvent être stockés dans les adipocytes ou utilisés comme substrat énergétique par les autres tissus. Les chylomicrons sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase, activée par l'apolipoprotéine C-II, ce qui entraîne la libération d'AGL et de résidus de chylomicrons. Ce processus est majoritairement observé dans le tissu adipeux (stockage) et dans les muscles (utilisation énergétique). Enfin, le foie peut capter les résidus de chylomicrons et les AGL issus de l'action de la lipoprotéine lipase, afin de les métaboliser ou de les éliminer. Toutefois, ces résidus peuvent s'accumuler dans le plasma lors d'une alimentation riche en lipides (Mahley et al., 1984). Au niveau du foie, les VLDL produites permettent de transporter les TG endogènes vers les tissus périphériques. Leur diamètre varie de 30 à 80 nm, elles sont hydrolysées par la lipoprotéine lipase, ce qui entraîne la formation de lipoprotéines de plus petite taille, comme les IDL (intermediate-density lipoproteins) (25 à 35 nm de diamètre), ainsi que les LDL (low-density lipoproteins), dont le diamètre est inférieur à 25 nm. Les IDL et les LDL jouent un rôle majeur dans le transport du cholestérol dans la circulation sanguine (Venugopal et al., 2025). Les HDL (high-density lipoproteins), mesurant entre 5 et 12 nm de diamètre, proviennent principalement du foie, de l'intestin et du plasma. Leur fonction principale est de transporter le cholestérol excédentaire des tissus périphériques vers le foie, contribuant ainsi à l'équilibre lipidique de l'organisme. Les HDL sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire, grâce à leurs propriétés anti-athérogènes et anti-inflammatoires, liées à un

processus qualifié d'efflux du cholestérol des cellules périphériques vers les HDL, qui le transportent ensuite jusqu'au foie pour son élimination (Bailey and Mohiuddin, 2025).

Ainsi, les lipoprotéines se divisent en quatre grandes catégories, classées en fonction de leur taille, de leur densité et de leur composition : les chylomicrons, les VLDL, les LDL et les HDL. Le **Tableau 2** résume leurs principales caractéristiques.

Lipoprotéines	**Taille (nm)**	**Densité (g/ml)**	**Composition en surface (% mol) -**			**Lipides principaux (% mol)**	
			Cholestérol	Phospholipides	Apolipoprotéine	Triglycérides	Esters de cholestérol
Chylomicrons	75-1200	0,93	35	63	2	95	5
VLDL	30-80	0,93-1,006	43	55	2	76	24
IDL	25-35	1,006-1,019	38	60	2	78	22
LDL	18-25	1,019-1,063	42	58	0,2	19	81
HDL_2	9-12	1,063-1,125	22	75	2	18	82
HDL_3	5-9	1,125-1,210	23	72	5	16	84

Tableau 2 : Caractéristiques des différentes lipoprotéines (Gotto et al., 1986). VLDL : very low-density lipoproteins ; IDL : intermediate-density lipoproteins ; LDL : low-density lipoproteins ; HDL : high-density lipoproteins

Par ailleurs, les lipoprotéines sont principalement constituées d'apolipoprotéines. Ces molécules, de nature et structure variées, assurent l'organisation structurelle des lipoprotéines et régulent leur métabolisme. Les apolipoprotéines peuvent agir en tant que ligands pour les récepteurs protéiques ou encore réguler l'action des enzymes impliquées dans les voies métaboliques des lipoprotéines, participant ainsi à leur sécrétion. Le **Tableau 3** présente les principales apolipoprotéines du foie ainsi que leurs caractéristiques et fonctions (Dominiczak and Caslake, 2011). Les apolipoprotéines ne seront pas détaillées davantage ici, car elles n'ont pas été étudiées dans le cadre de ces travaux.

Apolipoprotéines	Source principale	Lipoprotéines associées	Principales fonctions
ApoA-I	Foie, intestin	HDL (70 %), chylomicrons, VLDL	Structure des HDL, activatrice de LCAT
ApoA-II	Foie, intestin	HDL (20 %), chylomicrons, VLDL	Structure des HDL, triglycérides, lié à l'ApoE
ApoA-IV	Foie, intestin	Chylomicrons, HDL	Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides, Interaction avec Apo-CII, Activatrice de LCAT
ApoA-V	Foie	Chylomicrons, VLDL, HDL	Structure des chylomicrons et des HDL Activatrice de LPL
ApoB-100	Foie	VLDL, IDL, LDL	Structure des VLDL, IDL, LDL, Ligand des récepteurs aux LDL
ApoC-I	Foie, intestin	Chylomicrons, VLDL, HDL	Activatrice de LCAT, inhibiteur de LPL, CETP
ApoA-CII	Foie, intestin	Chylomicrons, VLDL, HDL	Activatrice de LPL
ApoC-III	Foie, intestin	Chylomicrons, VLDL, résidus d'HDL	Inhibiteur de LPL
ApoE	Foie, intestin, cerveau, rein, rate	Chylomicrons, VLDL, résidus d'HDL	Ligand des récepteurs aux LDL

Tableau 3 : Caractéristiques et fonctions principales des apolipoprotéines (Mayer, 2019). VLDL : very low-density lipoproteins ; IDL : intermediate-density lipoproteins ; LDL : low-density lipoproteins ; HDL : high-density lipoproteins ; LPL : lipoprotein lipase ; LCAT : lecithin–cholesterol acyltransferase ; CETP : cholesteryl ester transfer protein

2.2.2. La lipolyse hépatique durant une période de jeûne

Lors du jeûne, les concentrations d'insuline dans le sang sont faibles, tandis que celles du glucagon sont élevées. Ce mécanisme vise à hydrolyser les acides gras stockés (TG) pour les utiliser comme source d'énergie. Le foie entre alors dans un état de mobilisation des graisses, où la lipogenèse (synthèse des lipides) est inhibée et où la lipolyse (dégradation des TG stockés) est activée. En l'absence de glucose disponible, la priorité est donnée à la gluconéogenèse décrite précédemment et à l'oxydation des acides gras.

2.2.2.1. Mécanisme de captation et oxydation des acides gras par le foie

Les TG stockés dans des gouttelettes lipidiques du tissu adipeux sont libérés dans la circulation sanguine sous forme d'AGL *via* la lipolyse (**Figure 25)**. Cette dernière, principalement régulée par des hormones telles que le glucagon, augmente la concentration d'AMPc dans les

adipocytes ce qui active les enzymes responsables de la dégradation des TG. Cette activation entraîne la stimulation de la protéine kinase A, qui à son tour active des enzymes clés comme la lipase hormono-sensible/la lipase adipocytaire des TG. Ces enzymes dégradent les TG en AGL et en glycérol, qui sont ensuite libérés dans le sang (Alves-Bezerra and Cohen, 2017). Le foie catabolise les AGL via la β-oxydation ou utilise ceux provenant de l'hydrolyse des TG des chylomicrons captés pendant la période postprandiale.

L'absorption des AGL par le foie s'effectue selon deux modalités principales (**Figure 25**). La première est une diffusion passive à travers la bicouche lipidique, appelée flip-flop, rendue possible par la structure amphiphile des AGL et facilitée par leur groupement carboxyle (-COOH). La seconde implique un transport facilité par des protéines membranaires spécifiques, telles que les FATP (fatty acid transport proteins) et FAT/CD36 (fatty acid translocase/CD36) (Nguyen et al., 2008). Tandis que le flip-flop repose sur un simple gradient de concentration, les transporteurs permettent une captation sélective et régulée, adaptée aux besoins métaboliques de la cellule hépatique (Nguyen et al., 2008). Le transporteur CD36, une protéine membranaire ne se limite pas à l'absorption des AGL, mais participe également à la régulation de la lipolyse, la ré-estérification et l'homéostasie lipidique hépatique (Liu and Yin, 2025).

Une fois dans le cytosol, les acides gras et les acyl-CoA sont pris en charge respectivement par les FABP (fatty acid binding proteins) et les ACBP (acyl-CoA binding proteins) (**Figure 25**). Ces protéines facilitent leur transport vers différents compartiments cellulaires afin d'être utilisées dans des processus métaboliques tels que la β-oxydation (Nguyen et al., 2008)**.**

Dans les mitochondries hépatiques, les acides gras sont oxydés par la β-oxydation, comme dans le muscle squelettique. Les acétyl-CoA produits peuvent intégrer le cycle de Krebs ou servir de précurseur pour la synthèse des corps cétoniques (**Figure 25**). En revanche, lorsqu'il y a un jeûne prolongé, l'activité cétogénique est élevée conduisant à une réduction des niveaux d'oxaloacétate. Cela a pour effet de limiter l'entrée d'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs réduisant alors la production d'ATP dans le foie mais permettant de produire des corps cétoniques pour les tissus périphériques. Ce mécanisme est observé dans certaines conditions pathologiques, comme l'obésité, où une accumulation excessive d'acétyl-CoA mitochondriale stimulant la production de corps cétoniques afin de compenser une β-oxydation accrue est observée (Mooli and Ramakrishnan, 2022; Ponziani et al., 2015). Les corps cétoniques formés comme l'acétoacétate, le β-hydroxybutyrate et l'acétone constituent une source énergétique alternative pour le cerveau et les muscles. Toutefois, le foie est incapable de les utiliser en raison de l'absence d'enzymes nécessaires à leur oxydation (Fukao et al., 1997). Leur production

contribue non seulement à réguler l'excès d'acétyl-CoA, mais aussi à limiter l'activité de la gluconéogenèse liée à la demande énergétique (Morio et al., 2021).

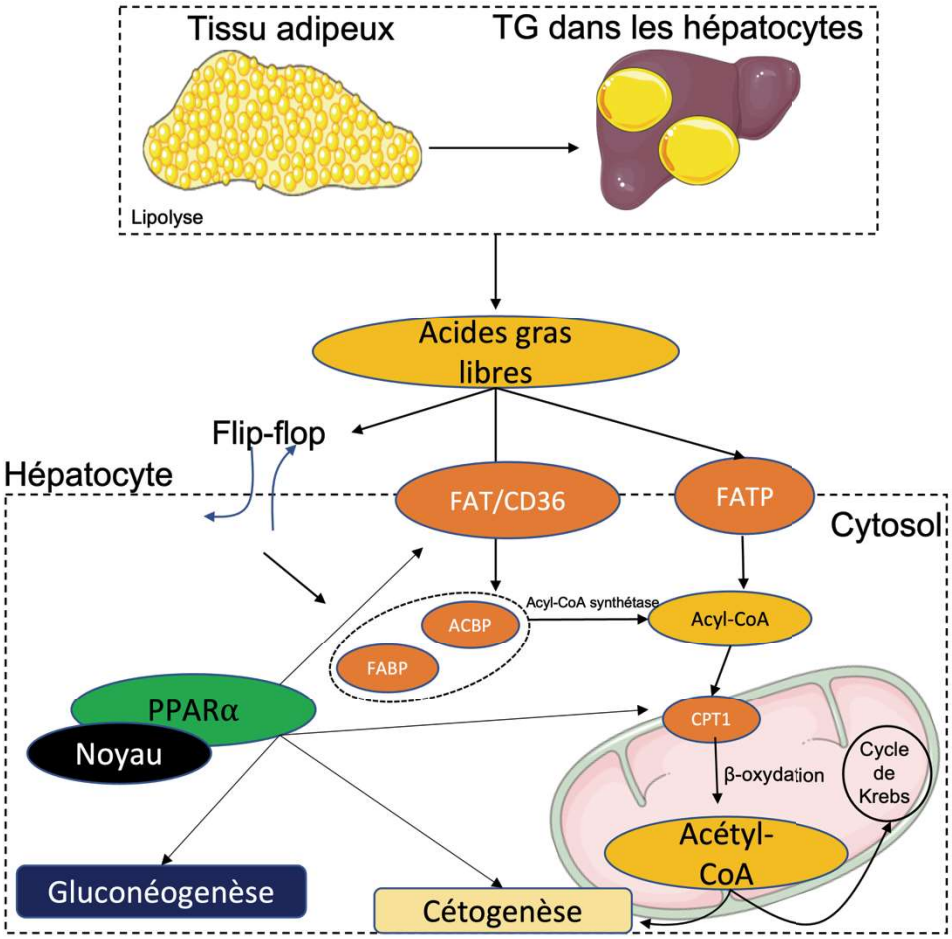


Figure 25 : Lipolyse et mécanismes de captation et d'oxydation des acides gras hépatiques. TG : triglyceride ; FAT/CD36 : fatty acid translocase ; FATP : fatty acid transport protein ; FABP : fatty acid-binding proteins ; ACBP : acyl-CoA-binding proteins ; CPT1 : carnitine palmitoyltransferase 1 ; PPARα : peroxisome proliferator-activated receptor alpha

Par ailleurs, les acides gras peuvent activer les récepteurs nucléaires PPARs, une famille comprenant PPARα, PPARβ/δ et PPARγ, tous impliqués dans la régulation du métabolisme lipidique (Clarke et al., 1999). Spécifiquement, PPARα joue un rôle clé en stimulant l'expression des gènes associés à l'absorption, au transport et à l'activation des acides gras, notamment CD36, FABP et CPT (**Figure 25**) (Motojima et al., 1998; Poirier et al., 2001). PPARα régule également l'expression des gènes essentiels à la β-oxydation mitochondriale, comme CPT1 (Rakhshandehroo et al., 2009). Ce mécanisme est fondamental pour la production d'énergie à partir des acides gras. Chez la souris, l'activation de PPARα entraîne une augmentation de la production de corps cétoniques. De plus, PPARα possède des activités anti-

inflammatoires, protégeant les cellules contre le stress oxydatif et les dommages induits par des agents chimiques (Burri et al., 2010). Ce stress oxydatif résulte de l'activation du métabolisme énergétique ainsi que des différentes voies impliquées dans la production de glucose ou de TG. Il est associé à une accumulation élevée d'ERO qui exposent les hépatocytes, conduisant à la peroxydation lipidique.

2.2.2.2. La peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique correspond à la réaction entre les ERO et les AGPI. Les isoprostanes F2, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxy-2-nonénal (HNE) sont considérés comme des produits terminaux de la peroxydation lipidique des AGPI (**Figure 26**) (Tsikas, 2017).

La peroxydation lipidique est caractérisée par l'oxydation d'un acide gras induit par une autre espèce chimique ayant une réactivité suffisante (par exemple les radicaux hydroxyles, peroxyles et hydroperoxyles) pour extraire un atome d'hydrogène d'un groupe méthylène ($-CH_2-$) au niveau de la chaîne aliphatique des acides gras. Lors de cette extraction, seul le proton est retiré, laissant l'électron de la liaison C–H sur l'atome de carbone, créant ainsi un radical lipidique, un atome de carbone portant un électron non apparié. Ce radical est stabilisé grâce à la présence de doubles liaisons qui permettent la délocalisation de cet électron sur plusieurs atomes de carbone par un phénomène appelé résonance, ce qui rend le radical plus stable et facilite sa formation. Plus le nombre de doubles liaisons entre les atomes de carbone est élevé, plus l'élimination de l'hydrogène est aisée. Pour cette raison, les AGPI sont particulièrement sensibles à la peroxydation (**Figure 26**). Ainsi, un réarrangement moléculaire est nécessaire, suivi d'une réaction oxygénique pour fournir un radical peroxyle ($O_2^{\bullet -}$). Les radicaux peroxyles peuvent se combiner entre eux ou oxyder des protéines membranaires. Ils peuvent également réagir avec des composants lipidiques comme les PL des membranes cellulaires hépatiques, entraînant des altérations structurelles et fonctionnelles. Ils sont également capables d'extraire l'hydrogène des chaînes aliphatiques d'acides gras adjacentes et donc de provoquer une réaction le long de la chaîne carbonée (Halliwell and Chirico, 1993). Les produits finaux de la réaction en chaîne sont une variété d'hydroperoxydes et de peroxydes cycliques (Gutteridge, 1995). Ces produits secondaires de la peroxydation lipidique, tels que le MDA et le HNE, peuvent réagir avec des protéines et des acides nucléiques, entraînant des dommages cellulaires et favorisant des processus pathologiques comme la stéatose hépatique (**Figure 26**). Cependant, même si les dosages du MDA et du HNE sont couramment employés pour évaluer le stress oxydant *ex vivo*.

la détermination du MDA présente une précision et une stabilité limitées pour refléter de façon fiable, les dommages oxydatifs sur les AGPI. En revanche, les F_2-isoprostanes et plus particulièrement le 8-iso-prostaglandine $F_2\alpha$ (8-iso-$PGF_2\alpha$) sont considérés comme les marqueurs de référence de la peroxydation lipidique, en raison de leur haute spécificité et de leur excellente stabilité analytique (Roberts and Morrow, 2000).

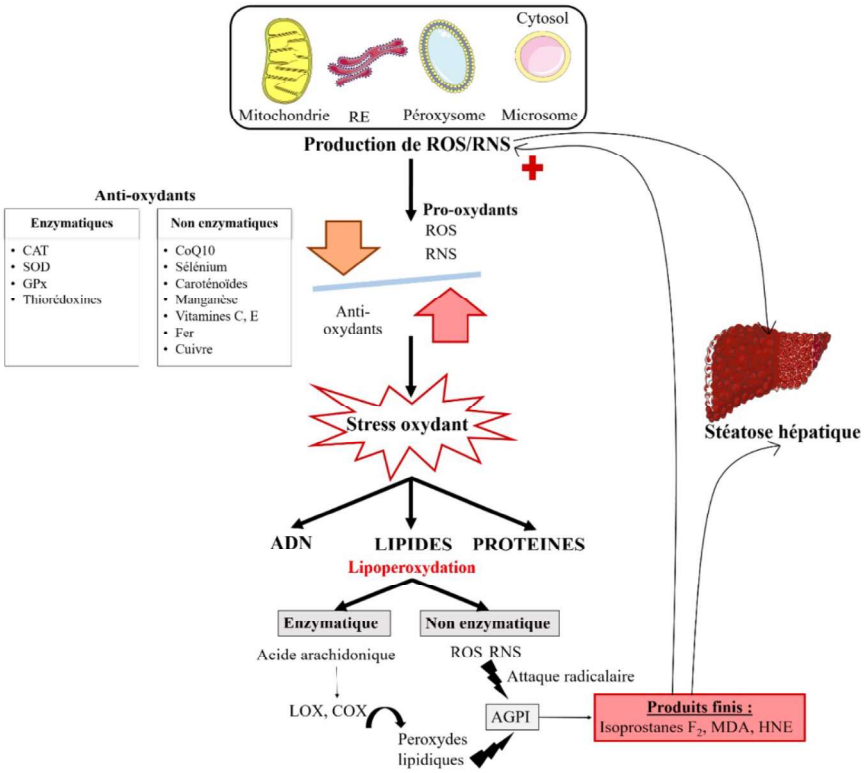


Figure 26 : La lipoperoxydation enzymatique et non enzymatique (Mayer, 2019). ADN : acide désoxyribonucléique ; AGPI : acides gras polyinsaturés ; CAT : catalase ; CoQ10 : coenzyme Q10 ; COX : cyclooxygénase ; GPx : glutathion peroxydase ; HNE : 4-hydroxy-2-nonénal ; LOX : lipoxygénase ; MDA : malondialdéhyde ; RE : réticulum endoplasmique ; RNS : reactive nitrogen species ; ROS : reactive oxygen species ; SOD : superoxyde dismutase

Par ailleurs, des processus enzymatiques sont également impliqués dans l'induction de la peroxydation lipidique. En effet, un processus de peroxydation enzymatique des lipides est possible, impliquant des enzymes telles que la cyclooxygénase et la lipoxygénase (**Figure 26**). Ce mécanisme se produit dans les hépatocytes, mais aussi dans d'autres types de cellules comme les macrophages, les cellules endothéliales et dans une moindre mesure dans le muscle squelettique (Studýnková et al., 2004). Ces enzymes produisent des peroxydes lipidiques, tels que des hydroperoxydes et des endoperoxydes comme intermédiaires chimiques en réponse à un stress. Le foie est un organe particulièrement sensible aux ERO et à la lipoperoxydation (Li

et al., 2015; Poli et al., 1987). En effet, la peroxydation lipidique perturbe la fluidité membranaire des hépatocytes, altérant le transport des lipides et des protéines, et favorisant la mort cellulaire par apoptose ou nécrose. De plus, les fonctions mitochondriales et les enzymes du réticulum endoplasmique sont altérées. Ceci est dû à leurs fortes teneurs en AGPI. Les mitochondries, les microsomes et les peroxysomes des cellules parenchymateuses sont eux même producteurs d'ERO, pouvant amplifier les lésions hépatocytaires (Li et al., 2015). Ces ERO induisent des liaisons aux lysosomes et altèrent la sécrétion des lipoprotéines hépatiques contribuant à l'accumulation non essentielle de lipides ainsi qu'au développement de l'athérosclérose (Poli et al., 1987). Ces mécanismes sont augmentés dans les maladies hépatiques, telles que la stéatose hépatique. En effet, il a été suggéré que la mesure de la peroxydation lipidique pourrait constituer un biomarqueur complémentaire pour la détection de la stéatose (Martín-Fernández et al., 2022).

Afin de lutter contre la peroxydation lipidique, les cellules hépatiques déploient des mécanismes antioxydants similaires à ceux des muscles parmi lesquels des enzymes telles que la GPx, la SOD et la CAT, jouent un rôle clé dans la neutralisation des ERO (**Figure 26**). En complément, des antioxydants non enzymatiques comme le sélénium, les vitamines C et E, ainsi que le fer, contribuent également à limiter le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres et en freinant la formation de produits lipidiques oxydés (Li et al., 2015).

La peroxydation lipidique est influencée par l'état nutritionnel de l'organisme. En condition de jeûne, l'augmentation de la lipolyse entraîne une élévation des AGL circulants, qui sont majoritairement captés par les tissus comme le foie et le muscle squelettique pour être oxydés *via* la β-oxydation mitochondriale. Cette augmentation du métabolisme lipidique favorise la production d'ERO, rendant les membranes cellulaires plus vulnérables à la peroxydation lipidique. Ainsi, le jeûne prolongé est associé à un stress oxydatif accru, notamment dans les tissus à haute activité mitochondriale comme le foie (Sorensen et al., 2006). À l'inverse, en période postprandiale, la disponibilité en substrats énergétiques et l'action de l'insuline réduisent la lipolyse et favorisent le stockage et la transformation des nutriments comme les TG. L'oxydation des lipides est alors diminuée, limitant la production d'ERO.

2.2.3. La lipogenèse *de novo* hépatique postprandiale

La DNL est la voie métabolique responsable de la synthèse des acides gras à partir des glucides excédentaires. Ces acides gras sont ensuite estérifiés en TG avec le glycérol-3-phosphate, qui

serviront par la suite de réserve énergétique. En condition d'apport nutritionnelle équilibré, la DNL se déroule principalement dans le foie et le tissu adipeux. Elle est considérée comme un contributeur mineur au maintien de l'homéostasie des TG plasmatiques qui sont principalement apportés par l'alimentation (Björntorp and Sjöström, 1978).

En revanche, un apport alimentaire hypercalorique et riche en fructose est associé à une hyper activité de la DNL, favorisant l'accumulation de TG (Sanders and Griffin, 2016). Cette hyperactivité s'explique par le processus de la DNL dont le précurseur est l'acétyl-CoA, provenant de l'oxydation du glucose. Ensuite, l'acétyl-CoA entre dans le cycle de Krebs, produisant du citrate qui est à nouveau converti en acétyl-CoA par l'ATP-citrate lyase en dehors de la mitochondrie (**Figure 27**). L'acétyl-CoA cytosolique est ensuite carboxylé en malonyl-CoA par l'ACC. La FAS (fatty acid synthase) est l'enzyme clé qui convertit le malonyl-CoA en palmitate (**Figure 27**).

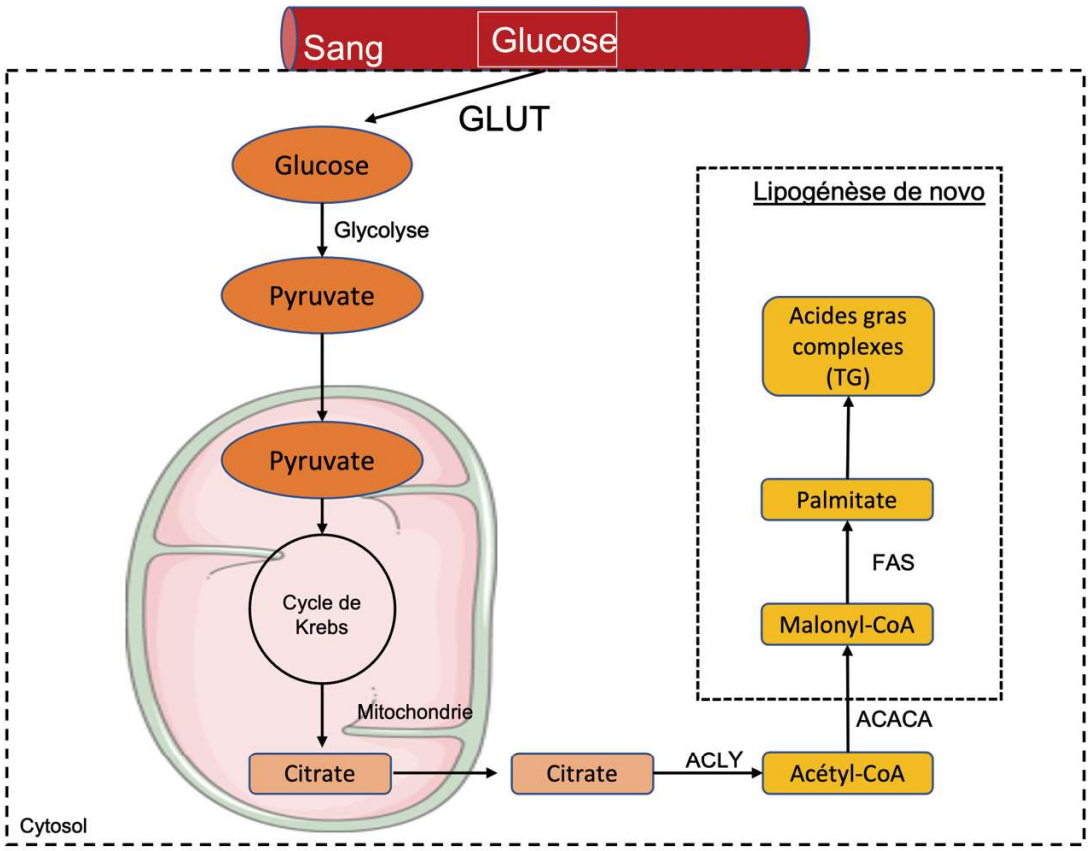


Figure 27 : La lipogenèse de novo hépatique. GLUT : glucose membrane transporter ; ACLY : atp-citrate lyase ; ACACA : acetyl-CoA carboxylase alpha ; FAS : fatty acid synthase ; TG : triglyceride

En général, l'élongation des acides gras produits s'arrête à 16 ou 18 atomes de carbone (Carey et al., 1970; Foster and Bloom, 1963), libérant du palmitate ou de l'acide stéarique *via* l'activité

du domaine thioestérase de la FAS (Chakravarty et al., 2004). La spécificité de la thioestérase de la FAS est sa capacité à diminuer l'activité de synthèse des chaînes plus courtes de moins de 14 atomes de carbone (Chakravarty et al., 2004).

Le résultat final est une chaîne acyle saturée, allongée de deux groupes carbonés, qui peut ensuite servir de substrat pour un nouveau cycle d'élongation (Sanders and Griffin, 2016). Après une série de réactions, le palmitate est converti en acides gras plus complexes (voir partie 2.2.4). La DNL est régulée par l'état hormonal et la disponibilité en nutriments. . Spécifiquement, une alimentation riche en oses simples, comme le fructose ou le glucose, stimule l'activité de la DNL hépatique. Cette activation entraîne une conversion accrue du glucose en acides gras, favorisant la synthèse des TG et leur stockage au sein du tissu hépatique et du tissu adipeux.

2.2.3.1. Impact des glucides alimentaires sur la lipogenèse hépatique et le métabolisme des triglycérides

Les régimes riches en glucides induisent une réponse lipogénique dans le foie, ce qui mène à une augmentation de la synthèse et de la sécrétion des VLDL (Strable and and Ntambi, 2010). Il a été démontré que ces régimes favorisent l'augmentation de la DNL hépatique et contribuent à l'hypertriglycéridémie (Schwarz et al., 2003).

Le fructose, en particulier, a été identifié comme un monosaccharide ayant un effet particulièrement puissant sur la DNL (Schwarz et al., 2015). En effet, il stimule la DNL en augmentant les niveaux de malonyl-CoA dans le foie, ce qui entraîne une conversion plus importante des glucides en lipides, même en présence d'un équilibre énergétique. Ce mécanisme s'explique par la conversion du fructose en dihydroxyacétone-phosphate et glycéraldéhyde, qui sont des intermédiaires glycolytiques. Ce processus contourne l'étape régulée par la phosphofructokinase-1, ce qui permet une conversion plus rapide et directe du fructose en acides gras, augmentant ainsi la DNL (Basaranoglu et al., 2013).

La DNL conduit à la synthèse d'acides gras saturés, qui peuvent ensuite être modifiés par des processus enzymatiques d'élongation et de désaturation. Ces modifications enzymatiques s'appliquent également aux acides gras d'origine alimentaire. Chaque étape est catalysée par des enzymes spécifiques, qui jouent un rôle crucial dans la régulation du métabolisme des acides gras au sein de l'organisme.

2.2.4. Synthèse des acides gras dans le métabolisme hépatique

Les acides gras peuvent être classés selon leur caractère essentiel. Les acides gras essentiels sont ceux que le métabolisme ne peut pas synthétiser et qui doivent être apportés par l'alimentation. Chez les mammifères, il s'agit de l'acide linoléique (C18:2n-6) et de l'ALA (C18:3 n-3). Ces deux acides gras sont les précurseurs de deux grandes familles : la famille n-6, dont l'un des principaux acides gras ayant une activité biologique est l'acide arachidonique. Pour la famille n-3, dérivée de l'ALA, l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6n-3) sont les principaux acides gras ayant des rôles importants dans les fonctions cardiovasculaire et cérébrale (von Schacky, 2021). La dernière grande famille est celle des n-9, dont le principal est l'acide oléique (C18:1n-9). A partir des précurseurs de chaque famille, plusieurs acides gras peuvent être convertis sous l'action des désaturases et des élongases comme décrit dans la figure suivante (**Figure 28**).

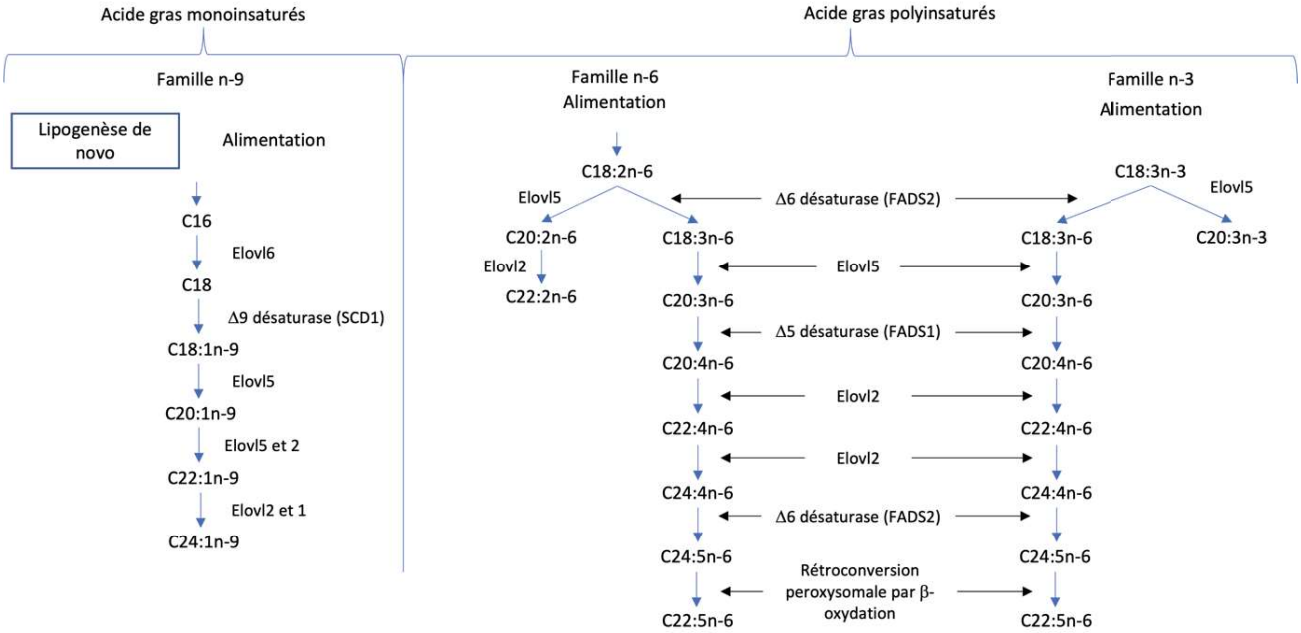


Figure 28 : Synthèse des acides gras hépatiques issus de la lipogenèse de novo et de l'alimentation (Pateiro et al., 2019)

Les acides gras à 16 ou 18 atomes de carbone, issus de la DNL ou de l'alimentation, sont convertis en acides gras monoinsaturés tels que l'acide oléique (C18:1n-9) et l'acide palmitoléique (C16:1n-7) sous l'action de la stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) (**Figure 28**) (Tocher and Glencross, 2015). Cette enzyme joue un rôle central dans la conversion des acides

gras saturés en AGMI de la famille des n-9, un processus influencé par l'alimentation (Sen et al., 2023).

Les désaturases des familles n-6 et n-3 telles que les delta 6 et delta 5 désaturases (Δ6 désaturase ou FADS2 et Δ5 désaturase ou FADS1) sont impliquées dans la conversion des acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique (C18:2n-6) et l'ALA. Ces enzymes catalysent l'introduction de doubles liaisons dans la chaîne carbonée des acides gras (**Figure 28**). À partir de ces acides gras, des AGPI comme l'acide arachidonique (ARA, C20:4n-6), l'EPA et le DHA peuvent être synthétisés de manière endogène (**Figure 28**). Il a été observé que la consommation d'AGPI alimentaires (comme ALA, EPA et DHA) réduit l'expression des Δ6 et Δ5 désaturases, suggérant un mécanisme de rétrocontrôle négatif régulant leur propre synthèse (Matsuzaka et al., 2002; Wang et al., 2006).

En alternance avec les processus de désaturation, des élongations sont également réalisées (**Figure 28**). Chez les mammifères, sept sous-types d'elongation of long-chain very long-chain (Elovl-1 à Elovl-7) ont été identifiés, chacun présentant une spécificité de substrat distincte. L'élongation des acides gras a principalement lieu dans le réticulum endoplasmique et implique l'utilisation du malonyl-CoA et des acyl-CoA comme substrats, grâce à une série d'enzymes, incluant la 3-cétoacyl-CoA réductase, une déshydratase et la trans-2,3-énoyl-CoA réductase (Leonard et al., 2004). Parmi les élongases, Elovl-2 assure l'élongation des AGPI de 20 à 22 atomes de carbone, tandis qu'Elovl-5 possède un spectre d'action plus large, couvrant les acides gras de 16 à 22 atomes de carbone (**Figure 28**) (Inagaki et al., 2002; Moon et al., 2001). Ces deux élongases sont impliquées dans la synthèse endogène des AGPI en transformant les acides gras essentiels en ARA et en DHA (Jump, 2009). Toutefois, chez l'humain, la conversion de l'ALA en DHA est limitée, avec un taux estimé entre 0,2 % et 8 % (Goyens et al., 2006).

Parmi les facteurs régulant l'expression des élongases et des désaturases, le récepteur nucléaire PPARα joue un rôle clé. Ce rôle a été mis en évidence par l'administration de WY14643, un agoniste spécifique de PPARα, à des doses de 50 ou 500 mg/kg chez des souris PPARα−/− (knock-out). Après une semaine de régime enrichi en WY14643, seules les élongases Elovl5 et Elovl6 ont montré une augmentation significative de leur expression hépatique, avec des inductions respectives de 14 et 3,6 fois à la dose de 500 mg/kg. Du côté des désaturases, les transcrits de Δ6 désaturase et Δ9 désaturase ont été multipliés par environ six, tandis que ceux de la Δ5 désaturase a été peu affectée. À l'inverse, Elovl1 et Elovl2 n'ont montré aucune réponse au traitement. Finalement, l'absence de toute induction des élongases et désaturases chez les souris dépourvues de PPARα confirme que ce récepteur est indispensable à la régulation de l'expression hépatique d'Elovl5, Elovl6, Δ6 et Δ9 désaturase (Wang et al., 2006).

D'autres activateurs de PPARα issus de sources exogènes, comme les AGPI n-3, en particulier l'EPA et le DHA sont des ligands puissants et des activateurs constants de PPARα. À l'inverse, d'autres AGPI, comme l'ALA, l'acide docosapentaénoïque (C22:5n-3), ainsi que certains AGPI oméga-6 tels que l'acide linoléique (C18:2n-6) et l'ARA, sont des activateurs plus faibles de PPARα (Tahri-Joutey et al., 2021).
Les processus enzymatiques des élongases et désaturases mentionnés ci-dessus, régulent la biotransformation des acides gras qui constituent les PL et les lipides neutres.

2.2.5. Rôles et structures des phospholipides et des lipides neutres

Les PL représentent une classe de lipides qui constitue moins de 4-5 % de l'apport lipidique alimentaire, mais qui jouent un rôle fondamental dans la structure et la fonction des cellules. Contrairement aux TG, les PL se distinguent par leur structure : deux acides gras (souvent des AGPI) sont associés à un glycérol *via* des liaisons esters (aux positions *sn*-1 et *sn*-2), tandis que la position *sn*-3 est liée à un groupe phosphate qui confère une charge électrique à la molécule (O'Keefe, 2002). Cette configuration confère une polarité marquée à cette partie de la molécule grâce à la présence du groupe phosphate, tandis que le reste de la molécule est non polaire. Ainsi, l'ensemble forme une structure amphipathique caractérisée par une extrémité polaire et une extrémité hydrophobe. Cette dualité structurale permet aux PL de jouer un rôle clé dans plusieurs fonctions métaboliques importantes, notamment dans les processus de signalisation cellulaire et l'interaction avec d'autres biomolécules, ainsi que dans la formation des bicouches lipidiques (Valenzuela B. et al., 2013).
Parmi les phosphoglycérides les plus connus, il est retrouvé la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylsérine et le phosphatidylinositol, chacun possédant une base différente attachée au groupe phosphate (Ventura et al., 2022).
Les lipides neutres ou lipides non polaires sont une autre classe de lipides. Ils ne possèdent pas de charge électrique (en raison de l'absence de groupe phosphate), contrairement aux lipides polaires. Ces lipides sont principalement impliqués dans le stockage de l'énergie (TG) et sont généralement insolubles dans l'eau à cause de leur structure non polaire (Mehlem et al., 2013).
Les TG et les esters de cholestérol sont les lipides neutres les plus abondants dans l'organisme et sont mobilisés par des processus enzymatiques tels que la lipolyse (Wilfling et al., 2014).
Les stérides sont des lipides neutres formés à partir d'une estérification du cholestérol par différents types d'acides gras, une réaction catalysée par l'acyl-coenzyme A cholestérol

acyltransférase. Ils jouent un rôle dans le transport du cholestérol dans la circulation sanguine et contribuent à la régulation de l'homéostasie lipidique (Goodman, 1965).

L'ensemble des mécanismes impliqués dans le métabolisme hépatique des lipides et des glucides décrit précédemment est fortement influencé par la nature du régime alimentaire. De manière similaire, dans le muscle squelettique, l'apport nutritionnel module l'activité des voies d'oxydation des substrats énergétiques. Une alimentation riche en lipides et en sucres est souvent associée au développement de l'obésité, qui peut entraîner des altérations du métabolisme pouvant être associées à une intolérance en ces nutriments. L'obésité d'origine nutritionnelle constitue ainsi un facteur majeur de dysfonction métabolique, tant au niveau hépatique que musculaire.

3. L'obésité

3.1. Définition

L'obésité est une maladie complexe aux origines multiples, que l'organisation mondiale de la santé (OMS) définit comme une accumulation excessive ou anormale de graisse corporelle pouvant nuire à la santé (World Health Organization, 2024). C'est en 1997 qu'elle est classée comme maladie qui n'a cessé de voir sa prévalence augmenter indépendamment de la tranche d'âge ou du sexe à tel point que l'obésité est maintenant considérée comme une pandémie mondiale (World Health Organization, 2024). Un individu est considèré obèse si son indice de masse corporelle (IMC) est supérieur ou égal à 30 kg/m² (**Figure 29**).

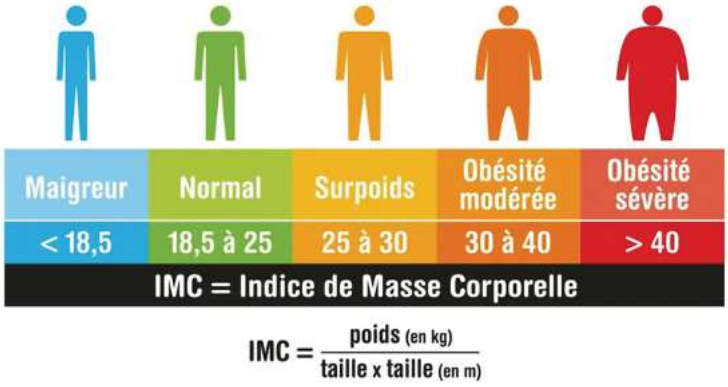


Figure 29 : Valeur de l'indice de masse corporelle et sa formule de calcul (Gutin, 2018)

L'IMC est principalement utilisé chez les adultes âgés de 18 à 65 ans. Toutefois, il présente des limites, car il ne prend pas en compte certains paramètres essentiels tels que la masse musculaire, la densité osseuse ou encore la répartition entre la masse grasse et la masse maigre. Il est donc recommandé d'associer l'IMC à d'autres indicateurs métaboliques et physiologiques pour mieux évaluer l'état de santé global d'un individu (Gutin, 2018).

3.2. Impact de l'obésité sur la santé et la mortalité

Chaque augmentation de 5 kg/m² de l'IMC au-dessus de 25 kg/m² augmente la mortalité globale d'environ 30 %, la mortalité vasculaire de 40 %, et la mortalité liée au diabète, aux maladies rénales et hépatiques de 60 % à 120 %. À un IMC de 30 à 35 kg/m², l'espérance de vie médiane est réduite de 2 à 4 ans, et pour un IMC de 40 à 45 kg/m², elle est réduite de 8 à 10 ans. Les principales causes de décès sont les maladies cardiaques ischémiques, les arrêts cardiovasculaires et les complications liées au diabète. Une mortalité accrue chez les personnes obèses implique la résistance à l'insuline, ainsi que tous les composants du syndrome métabolique (hyperglycémie, dyslipidémie et hypertension) (Phillips et al., 2013; Upadhyay et al., 2018; Van Gaal et al., 2006).

3.3. Prévalence de l'obésité dans le monde et en France

À l'échelle mondiale, environ 13 % de la population était touchée par l'obésité en 2016, soit plus de 650 millions de personnes. En France, selon l'enquête ObEpi Roche de 2023, 17 % des Français étaient concernés par l'obésité et 30 % étaient en surpoids. Selon les résultats de l'étude OFÉO 2024, commandée par la Ligue nationale contre l'obésité, 48,8 % des Français sont désormais en situation de surpoids ou d'obésité, dont 18,1 % (soit près de 10 millions de personnes), sont concernés par l'obésité (EFEO, 2024). Ces chiffres traduisent une progression inquiétante de la prévalence de l'obésité en France au fil des ans, d'autant plus que ces taux ont doublé depuis 1980. L'obésité représente aujourd'hui un facteur de mortalité liée aux comorbidités après le tabagisme, l'hypertension et le diabète. Elle constitue un facteur de risque pour de nombreuses pathologies, notamment les maladies cardiovasculaires (hypertension, cardiopathies, accidents vasculaires cérébraux), les affections métaboliques comme le diabète, les troubles hépatiques tels que la stéatose hépatique, certains types de cancers, ainsi que des pathologies respiratoires, dermatologiques et rhumatologiques (Andolfi and Fisichella, 2018; Apovian, 2016). De plus, l'obésité est également associée à divers troubles psychologiques,

notamment l'anxiété, la dépression, les addictions, le déclin cognitif et certains troubles du comportement, tels que l'agressivité (Steptoe and Frank, 2023).

3.4. Influence de l'alimentation sur l'obésité

L'alimentation est l'un des principaux facteurs responsables de l'obésité, en raison d'une évolution vers un mode de vie favorisant la surconsommation et l'apport excessif en nutriments obésogènes tels que les glucides et les lipides. L'OMS recommande que l'apport en lipides ne dépasse pas 30 % et que la consommation de produit sucré soit limitée à 10 % des apports caloriques quotidiens (World Health Organization, 2024). De plus, l'une des problématiques alimentaires majeures des sociétés modernes réside dans l'accès facilité à des produits ultra-transformés, souvent riches en sucres simples et à fort pouvoir insulinémiant. Leur consommation excessive est aujourd'hui considérée comme un facteur contribuant aux déséquilibres métaboliques en particulier chez les jeunes adultes/adolescents (Dicken and Batterham, 2024). Dans les pays occidentaux tels que la France, une alimentation composée d'environ 39 % de lipides et 58 % de glucides est associée à un taux d'obésité d'environ 22 % (**Figure 30**). Aux États-Unis, l'apport lipidique excède 40 % et environ 36 % de l'obésité y est observée (**Figure 30**). Le cas des îles Samoa, où l'apport en lipides atteint 45 %, coïncide avec un taux d'obésité de 50 %. À l'inverse, le Japon, qui enregistrait seulement 4 % d'obésité chez les adultes en 2016, affiche une consommation de lipides plus modérée, autour de 29 % des apports caloriques quotidiens (**Figure 30**).

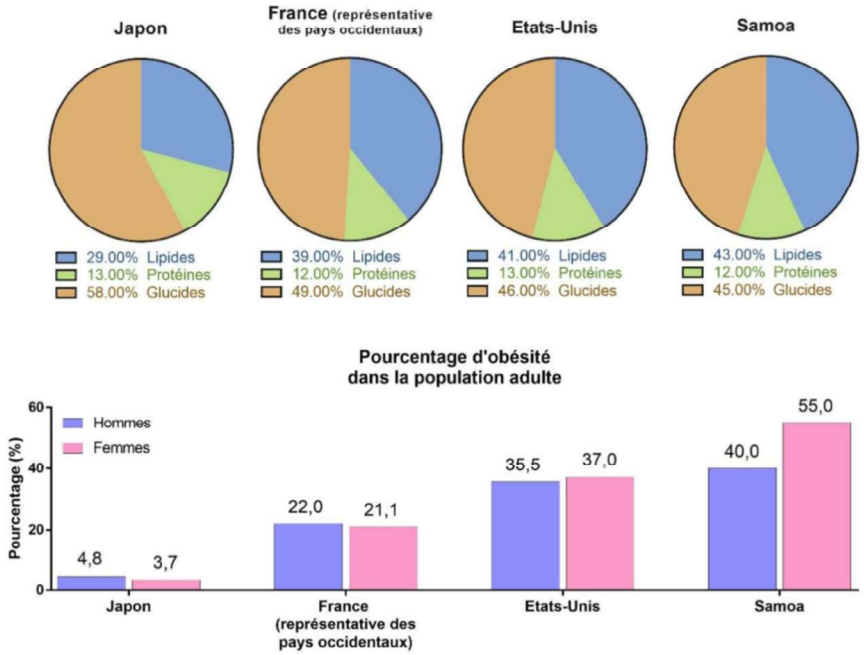


Figure 30 : Corrélation entre la composition des apports caloriques journaliers et le pourcentage d'obésité (Sanchez, 2023)

Ces données illustrent une corrélation directe entre la proportion de lipides consommés et la prévalence de l'obésité au sein d'une population adulte (Sanchez, 2023).

Afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques et physiologiques sous-jacents à l'obésité induite par un déséquilibre alimentaire, les études reposent fréquemment sur des modèles animaux. Les souches de rongeurs les plus couramment utilisées en tant que modèles d'obésité induits par un régime hyperlipidique sont les rats Sprague-Dawley, les rats Wistar, les souris C57BL/6 J et le hamster syrien doré. Ces modèles animaux permettent d'étudier les mécanismes du métabolisme énergétique altéré par l'alimentation dans des tissus dont les prélèvements ne sont pas réalisables chez l'Homme (Wong et al., 2016). Le modèle de rat le plus utilisé, dans 75 % des cas, est le rat Wistar, un choix qui s'expliquerait par des effets métaboliques plus sensibles aux régimes alimentaires qu'avec le rat Sprague-Dawley (Kakimoto and Kowaltowski, 2016; Marques et al., 2016). L'induction de l'obésité chez ces modèles est réalisée par l'administration de régimes riches en graisses saturées, souvent issues de sources animales (comme le lard ou le beurre), visant à reproduire les troubles métaboliques observées chez l'Homme. Cependant, certains protocoles expérimentaux incluent des proportions de lipides bien supérieures à celles consommées dans l'alimentation humaine, ce qui peut influencer la transposabilité des résultats. Ainsi, des ajustements ont été entrepris afin de rendre ces régimes plus représentatifs des habitudes alimentaires humaines, en prenant en compte non seulement la teneur en lipides, mais aussi la composition en acides gras et en glucides. Ces efforts visent à améliorer la validité des études portant sur l'obésité induite par l'alimentation et à affiner les conclusions pouvant être extrapolées à l'humain (Speakman, 2019).

Sur le plan quantitatif, les données épidémiologiques n'établissent pas de lien direct entre la proportion totale de lipides dans l'alimentation et le développement de l'obésité ou du syndrome métabolique, lorsque l'apport énergétique global est contrôlé (Seidell, 1998). Toutefois, une consommation lipidique très élevée, excédant 50 % de l'apport énergétique total, peut contribuer à un déséquilibre de la balance énergétique et favoriser l'augmentation de la masse grasse. De plus, une corrélation positive est observée entre un apport lipidique supérieur à 40 % et un risque accru de syndrome métabolique (ANSES, 2011). Les méta-analyses confirment qu'une réduction modérée de l'apport lipidique entraîne une perte de poids modeste mais significative (~1,6 kg) ainsi qu'une diminution de l'IMC (Hooper et al., 2012).

Enfin, la qualité des graisses consommées semble déterminante : un régime riche en lipides insaturés, tel que le régime méditerranéen, n'est pas associé à une prise de poids et peut même s'accompagner de bénéfices métaboliques (Beulen et al., 2018).

Si les modèles animaux et les ajustements nutritionnels permettent de mieux comprendre les mécanismes de l'obésité liés à l'alimentation, cette problématique prend une ampleur particulière lorsqu'elle touche les populations les plus vulnérables, notamment les adolescents.

3.5. L'obésité chez les adolescents : une problématique croissante

L'obésité chez les adolescents est devenue une problématique majeure du 21e siècle, avec une prévalence en constante augmentation. Elle est accompagnée d'une malnutrition et de carences en nutriments essentiels comme le fer et le zinc, mais aussi sous la forme d'un excès calorique favorisant le surpoids. Un adolescent est considéré comme obèse lorsqu'il présente un excès de graisse corporelle dépassant 25 % chez les garçons et 30 % chez les filles. Cependant, l'évaluation de l'obésité chez les jeunes est plus complexe que chez les adultes. Plusieurs facteurs influencent cette tendance, notamment le mode de vie, l'environnement scolaire et social, ainsi que des aspects psychologiques et génétiques. Si l'hérédité joue un rôle, avec une transmission de l'IMC estimée entre 25 et 40 %, elle n'explique pas à elle seule l'augmentation alarmante de l'obésité chez les jeunes. Le métabolisme basal, ne semble pas être un facteur déterminant dans la prise de poids. La sédentarité constitue aussi un facteur majeur contribuant à l'augmentation du surpoids chez les jeunes. Enfin, une forte consommation de produits transformés, associée à un temps d'écran prolongé et une activité physique insuffisante, favorise le développement de l'obésité (Sahoo et al., 2015).

3.6. Le surpoids induit par un excès de masse grasse corporelle

Le surpoids et l'obésité, comme évoqué précédemment, entraînent une accumulation excessive de tissu adipeux. Cette surcharge lipidique est souvent associée à des altérations métaboliques dans divers organes, pouvant conduire à des complications systémiques. Cependant, Blüher a montré que cet excès de graisse peut parfois être présent sans provoquer de dysfonctionnements métaboliques, laissant ainsi certains individus en bonne santé malgré leur surcharge pondérale (Blüher, 2020). Dans la suite de cette revue, seule l'accumulation excessive de graisse conduisant à des troubles métaboliques sera étudiée.

3.6.1. Les types de tissus adipeux et leurs rôles métaboliques

Le tissu adipeux est un organe dynamique réparti dans tout le corps qui permet le stockage des lipides. Il est doté d'une capacité presque illimitée d'expansion en cas d'obésité. Plusieurs dépôts distincts peuvent être définis selon leur localisation, leur taille, leur composition cellulaire et leur fonction. Bien que de nombreuses fonctions du tissu adipeux soient conservées entre les modèles murins et humains, leur distribution et leur abondance varient considérablement (Koenen et al., 2021).

Les mammifères possèdent deux principaux types de tissu adipeux : le tissu adipeux blanc (WAT, white adipose tissu) et le tissu adipeux brun (BAT, brown adipose tissue). Le WAT constitue la quasi-totalité du tissu adipeux total et se trouve autour des organes, des vaisseaux sanguins, dans la cavité abdominale et sous la peau. Il est un acteur majeur dans le développement des troubles cardiométaboliques, de l'hypertension et des maladies cardiovasculaires (Koenen et al., 2021).

À l'inverse, le BAT représente environ 4,3 % du tissu adipeux total chez l'adulte humain et se localise principalement dans les régions cervicale, supraclaviculaire, axillaire, paraspinale, médiastinale et abdominale. Chez le nouveau-né, le BAT interscapulaire est d'environ 5% du poids corporel, et diminue progressivement avec l'âge, devenant pratiquement indétectable chez l'adulte (Carter and Schucany, 2008). Le BAT protège les animaux hibernant de l'hypothermie en dissipant l'énergie sous forme de chaleur *via* un processus appelé thermogenèse sans frisson ou découplage mitochondrial (Koenen et al., 2021). Le WAT contient une unique et grande gouttelette lipidique (uniloculaire) et possède peu de mitochondries. En revanche, le BAT présente plusieurs gouttelettes lipidiques de petite taille (multiloculaires) et une densité mitochondriale importante, caractérisée par l'expression unique de l'UCP (uncoupling protein) au niveau de la MI mitochondriale. L'UCP découple la phosphorylation oxydative permettant la thermogénèse et la régulation de la production d'ERO (**Figure 31**) (Cadenas, 2018; Klaus et al., 1991).

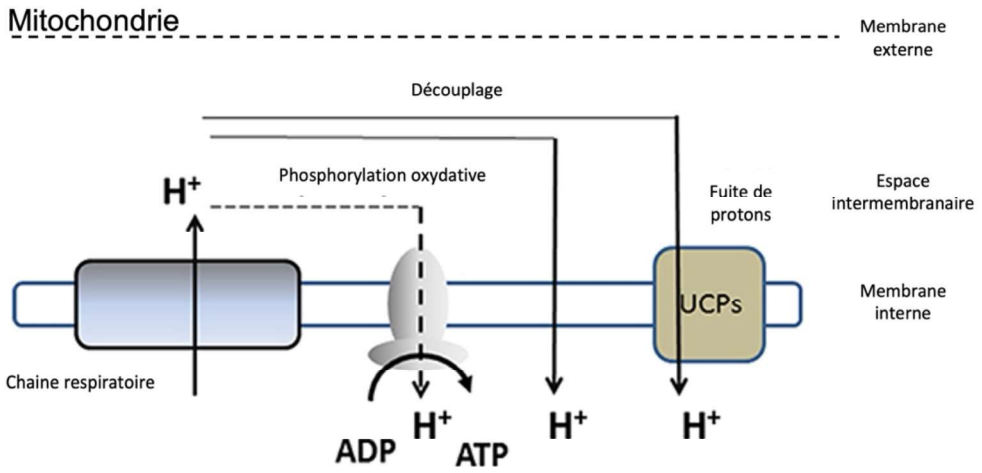


Figure 31 : Mécanisme du découplage mitochondrial (Busiello et al., 2015). UCP : uncoupling protein

Il a également été démontré que le BAT possède des propriétés anti-obésité et anti-diabétique, conférant ainsi des bénéfices cardiométaboliques chez l'humain (Becher et al., 2021). Ce découplage mitochondrial peut également se produire dans le muscle squelettique et le foie dans certaines conditions, notamment lorsque la dissipation de l'énergie devient nécessaire (Ost et al., 2017).

Toutefois, au cours de l'obésité, le WAT est le premier tissu affecté. Son dysfonctionnement résulte d'une sollicitation excessive, entraînant une inflammation chronique de bas grade.

3.6.2. Dysfonctionnement du tissu adipeux blanc et inflammation chronique dans l'obésité

Le WAT est constitué de divers types cellulaires, notamment des pré-adipocytes, des cellules endothéliales, des fibroblastes et des macrophages (Wozniak et al., 2009). Chez les personnes obèses, les macrophages s'organisent en structures caractéristiques en couronne autour des adipocytes hypertrophiés. Ces macrophages se divisent en deux sous-types : les macrophages de type M1, qui sont pro-inflammatoires, et les macrophages de type M2, qui sont anti-inflammatoires. Les macrophages M1 sont activés de manière classique, sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF-α (facteur de nécrose tumorale alpha) et IL-6, tandis que les M2 sont activés de manière partielle et libèrent des cytokines anti-inflammatoires comme l'interleukine 4 et l'interleukine 10 (Itoh et al., 2011). Cependant, en situation d'obésité, une conversion progressive des M2 en M1 est observée, ce qui renforce l'inflammation chronique et contribue aux complications métaboliques associées (Nakajima et al., 2016). Lors d'une prise

de poids excessive, le WAT subit des modifications structurelles et fonctionnelles. En effet, l'hypertrophie adipocytaire est caractérisée par une augmentation du volume des adipocytes due à l'accumulation de TG qui peut déboucher sur une réduction de la capacité de stockage du tissu adipeux. Lorsque cette limite est atteinte, le stockage est saturé augmentant la concentration en AGL circulants et leur accumulation dans d'autres organes comme le foie et les muscles, favorisant ainsi l'insulino-résistance. En parallèle, une hyperplasie adipocytaire (augmentation du nombre d'adipocytes) est engendrée par prolifération cellulaire, bien que cette capacité adaptative soit tout de même limitée chez les adultes. Ce remodelage favorise le processus de lipolyse, entraînant une libération accrue d'AGNE et/ou d'AGL. Ces derniers peuvent s'accumuler, notamment dans le foie et les artères, contribuant ainsi au développement de dyslipidémies, d'inflammation, d'insulino-résistance et de troubles métaboliques (Amin et al., 2019; Castoldi et al., 2016).

La présence accrue de M1 est associée à des concentrations élevées de cytokines inflammatoires comme TNF-α, IL-6 et la leptine, qui interfèrent avec le fonctionnement de IRS1 (insulin receptor substrate 1), réduisant ainsi l'efficacité de l'insuline (Amin et al., 2019). La concentration de leptine va être augmentée avec la masse grasse, jouant un rôle clé dans cette inflammation chronique. Elle stimule l'activation des macrophages M1 et favorise la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, amplifiant ainsi la résistance à l'insuline et les dysfonctionnements métaboliques associés. Lorsque ces cytokines sont fortement exprimées, elles favorisent la dégradation des TG et augmentent la concentration d'AGL, renforçant également la résistance à l'insuline (Boden, 2011). Ainsi, les interactions complexes entre les adipocytes et les macrophages modifient la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires dans le tissu adipeux, à l'origine d'un état inflammatoire chronique et une résistance à l'insuline au niveau des tissus périphériques. Ces perturbations contribuent au développement de complications métaboliques associées à l'obésité (Oliver et al., 2010).

L'augmentation des AGL circulants n'est pas sans conséquence pour le foie, qui tente de réguler cet excès lipidique afin de préserver l'homéostasie énergétique des autres tissus.

3.6.3. La lipotoxicité hépatique et impact métabolique

Au cours de l'obésité, comme expliqué précédemment, on observe une accumulation de substrats lipidiques et glucidiques dans les hépatocytes, induisant des phénomènes de lipotoxicité et glucotoxicité conduisant progressivement à des dysfonctionnements cellulaires

et, dans les cas les plus sévères, à l'apoptose des hépatocytes (Mota et al., 2016). Parmi ces dysfonctionnements, il peut être cité l'installation d'une stéatose hépatique.

3.6.3.1. La stéatose hépatique

L'accumulation de TG dans les hépatocytes constitue une caractéristique majeure des maladies du foie gras comme la NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) (Tsukamoto, 2005). Ce phénomène se produit lorsque la synthèse lipidique dépasse la capacité d'assemblage et de sécrétion des VLDL.

Plusieurs facteurs peuvent contribuer au développement d'une stéatose hépatique. Parmi eux, une stimulation accrue de la synthèse d'acides gras dans le foie peut survenir en réponse à un apport calorique excessif, en particulier lorsqu'il est associé à une consommation importante de fructose. Toutefois, l'impact de ces facteurs varie selon le contexte métabolique individuel, la composition globale de l'alimentation et le niveau d'activité physique (Gaby, 2005). L'activité élevée de la lipogénèse hépatique induit par le fructose, entraîne un stress oxydatif et un dysfonctionnement des organites cellulaires. En réponse, une résistance à l'insuline s'installe, limitant l'inhibition de la lipolyse dans le tissu adipeux. Cela entraîne une libération accrue d'AGL vers le foie, où ils sont retransformés en TG pour y être stockés. Si cette résistance persiste, le foie devient lui-même résistant à l'insuline, ce qui désinhibe la néoglucogenèse hépatique, contribuant à l'apparition d'une hyperglycémie (Boden, 2011). Cette situation entraîne une hyperinsulinémie compensatoire qui stimule davantage la synthèse des acides gras tout en inhibant leur dégradation dans les hépatocytes. Lorsque l'apport en acides gras excède la capacité de leur β-oxydation, l'accumulation d'acyl-CoA entraîne leur conversion en TG, augmentant le développement de la stéatose hépatique (Zámbó et al., 2013). Cependant, il est important de noter que l'accumulation d'AGL ou d'acyl-CoA peut être plus toxique pour les hépatocytes que le stockage sous forme de TG. Des études menées sur des lignées cellulaires hépatiques humaines (HepG2 et Huh7) ont montré que la lipotoxicité induite par l'acide stéarique est déclenchée par l'interruption de la synthèse des TG. En revanche, la capacité des cellules à synthétiser et à stocker des TG en présence d'acide oléique insaturé semble constituer un mécanisme protecteur contre la lipotoxicité (Mantzaris et al., 2011). Plusieurs études ont démontré que la formation d'acyl-CoA constitue une étape clé dans l'établissement de la lipotoxicité hépatique induite par les acides gras (Neuschwander-Tetri, 2010). Parmi les métabolites dérivés de l'acyl-CoA, les céramides jouent un rôle central dans les lésions

cellulaires hépatiques et sont particulièrement abondants chez les individus atteints de NAFLD (Neuschwander-Tetri, 2010).

Dans le contexte de l'obésité et de la résistance à l'insuline, les céramides se forment souvent à cause d'une accumulation excessive d'AGL. Par ailleurs, les diacylglycérols, qui activent diverses voies de signalisation cellulaire comme l'activation des kinases, sont fortement impliqués dans la progression de la stéatose hépatique. Une augmentation de leur concentration est, en effet, corrélée à des dommages cellulaires significatifs (Puri et al., 2007).

Des études expérimentales sur des modèles animaux ont également mis en évidence une corrélation entre l'élévation des niveaux plasmatiques et tissulaires de céramides et l'insulino-résistance hépatique (Chaurasia and Summers, 2015). Chez les patients obèses souffrant de NAFLD, une accumulation hépatique de diacylglycérols est mesurée ainsi qu'une augmentation de l'activité de la SCD1 (Kotronen et al., 2009). Elle est d'ailleurs suspectée de jouer un rôle clé dans l'apparition d'une insulino-résistance hépatique induite par l'alimentation (Gutiérrez-Juárez et al., 2006). Enfin, d'autres médiateurs bioactifs pourraient également intervenir dans la lipotoxicité, notamment la phosphatidylcholine, un composant majeur des membranes cellulaires. Dans le contexte de la NAFLD, les niveaux de lysophosphatidylcholine apparaissent significativement élevés et pourraient représenter un facteur clé de la toxicité lipidique (Han et al., 2008).

La NAFLD ne constitue pas la seule complication associée à l'obésité nutritionnelle. Comme évoqué précédemment, la résistance à l'insuline est souvent observée dans ce contexte, conduisant à l'émergence d'un diabète de type 2. Par ailleurs, l'augmentation massive des lipides circulants peut entraîner des altérations de la pression artérielle, fréquemment corrélées à une dyslipidémie, caractérisée par un déséquilibre du profil lipidique sanguin.

3.6.3.2. Autres conséquences métaboliques de l'obésité

L'obésité est fortement liée au développement du diabète de type 2. La résistance à l'insuline dans le foie, les muscles et le tissu adipeux entraîne une augmentation de la production d'insuline par les cellules β pancréatiques afin de maintenir une normoglycémie (Kahn et al., 2006). Par ailleurs, un dysfonctionnement des cellules β peut survenir sous l'effet de facteurs génétiques et environnementaux et être aggravé par la lipotoxicité favorisant le développement du diabète de type 2. L'association entre hyperglycémie et hyperlipidémie, connue sous le nom de glucolipotoxicité, accélère la destruction des cellules β, réduit la sécrétion d'insuline et aggrave l'hyperglycémie (Upadhyay et al., 2018). En parallèle, l'expansion du tissu adipeux

entraîne une augmentation de la production de certaines molécules qui influencent la sensibilité à l'insuline. Une élévation des niveaux d'AGNE et de glucose perturbe l'oxydation de ces substrats, inhibant plusieurs enzymes clés de la glycolyse, notamment la phosphofructokinase, la PDH et l'hexokinase II (Kahn et al., 2006). De plus, l'accumulation de métabolites lipidiques tels que les céramides, les TG et les acyl-CoA favorise la phosphorylation de sérine et de thréonine des substrats IRS1 et IRS2, ce qui limite l'activation des PI3K et entrave la signalisation en aval du récepteur de l'insuline (Kahn et al., 2006). Cela a pour conséquence de réduire la translocation de GLUT4 à la membrane plasmique et ainsi de diminuer la captation du glucose par les cellules, contribuant à l'insulino-résistance.

L'obésité a également un impact majeur sur la pression artérielle. Les personnes dont l'IMC est supérieur à 30 kg/m² présentent un risque d'hypertension multiplié par 9, en raison d'une surcharge volumique, d'une augmentation de la résistance périphérique et de modifications structurelles rénales favorisant la rétention sodée (Upadhyay et al., 2018).

L'obésité est également associée à une dyslipidémie caractérisée par une élévation des TG plasmatiques et de l'apolipoprotéine B, ainsi que par une diminution du HDL- cholestérol (Chan et al., 2004). L'accumulation de graisse viscérale, combinée au développement de la résistance à l'insuline, entraîne une augmentation du flux d'AGL vers la circulation, puis vers le foie, ce qui stimule la synthèse hépatique de TG. Cela favorise également une augmentation de la sécrétion hépatique de VLDL-apolipoprotéine B et une accélération du catabolisme de HDL-apolipoprotéine A-I. Étant donné le lien étroit entre la dyslipidémie et l'athérogenèse, ces altérations du profil lipidique contribuent significativement à l'augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire associée à l'obésité (Brown et al., 2000).

En résumé, l'obésité favorise la résistance à l'insuline, l'hyperglycémie, l'hypertension et la dyslipidémie augmentant ainsi le risque de complications cardiovasculaires. Les déséquilibres métaboliques liés à l'obésité expliquent 44 % du risque lié aux maladies coronariennes et 69 % du risque d'arrêts cardiovasculaires (Upadhyay et al., 2018). Parmi les différentes altérations métaboliques décrites, la synthèse des acides gras au niveau hépatique est affectée par l'afflux massif d'AGL vers le foie. Cette surcharge lipidique peut induire des modifications de l'expression transcriptionnelle des élongases et des désaturases, entraînant des variations de leur activité enzymatique et influençant ainsi la composition et la production des acides gras.

3.6.4. Régulation des gènes hépatiques impliqués dans synthèse des acides gras au cours de l'obésité

La consommation importante d'acides gras saturés, tels que C16:0 ou C18:0, peut entraîner des altérations de l'activité des enzymes responsables de la synthèse des acides gras (désaturases et élongases). Au cours de l'obésité, ces enzymes hépatiques sont sollicitées davantage en raison de l'augmentation du flux d'AGL. Plusieurs facteurs sont impliqués dans la synthèse des AGPI. Parmi ces facteurs, les principaux sont (Videla et al., 2022) :

- les polymorphismes génétiques (variation des séquences de l'ADN) affectant les gènes des Δ5 et Δ6 désaturase,
- les changements hormonaux,
- le diabète de type 2 et la stéatose hépatique,
- le vieillissement,
- les facteurs liés au mode de vie, tels que l'activité physique, le tabagisme et la consommation d'alcool,
- Le statut nutritionnel et les apports alimentaires.

Concernant les apports alimentaires, des études portant sur la synthèse des acides gras menées sur des modèles d'animaux montrent que l'alimentation influence directement l'activité des enzymes impliquées dans la désaturation et l'élongation des acides gras (**Figure 32**).

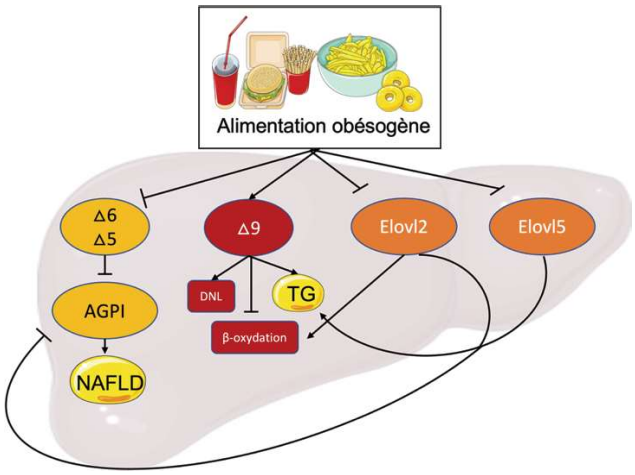


Figure 32 : Effets d'un régime riche en lipides (obésogène) sur les enzymes impliquées dans la synthèse des acides gras polyinsaturés. Δ6 : désaturase 6 ; Δ9 : désaturase 9 ; D5 : désaturase 5 ; AGPI : acide gras polyinsaturé ; TG : triglyceride ; DNL : de novo lipogénèse ; NAFLD : non-alcoholic fatty liver disease ; Elovl : elongation of very long-chain fatty acids

Valenzuela et al. ont observé qu'un régime riche en lipides (60 % des calories provenant des lipides) entraîne une diminution de l'activité des Δ6 et Δ5 désaturases dans les fractions microsomales du foie (Valenzuela et al., 2015). Cette réduction enzymatique limite la biodisponibilité des AGPI, aussi bien au niveau hépatique que dans les tissus périphériques. De manière similaire, une baisse de l'activité de désaturation hépatique a été rapportée chez des patients atteints de NAFLD (ARAYA et al., 2004). L'analyse des rapports produit/précurseur des acides gras suggère une inhibition des Δ6 et Δ5 désaturases (Athinarayanan et al., 2021). Dans le cadre de la NAFLD induite par l'obésité, une réduction de l'activité des désaturases hépatiques s'accompagne paradoxalement d'une augmentation de l'expression des ARNm de FADS1 et FADS2, sous le contrôle du facteur de transciption de SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein 1c) (Delarue et al., 2004).

Par ailleurs, la dérégulation de SCD1 joue un rôle clé dans le développement de la NAFLD, de l'hyperlipidémie et de l'obésité. Des études montrent qu'une déficience en SCD1 chez la souris réduit l'accumulation des TG dans le foie, augmente l'oxydation des acides gras et diminue la DNL. L'expression de SCD1 est stimulée par des niveaux élevés d'insuline et un apport lipidique élevé (Tao et al., 2021).

Une activité accrue de l'Elovl5 favorise le catabolisme des TG, contribuant ainsi à la réduction de la NAFLD. À l'inverse, une diminution de son expression augmente la lipogenèse hépatique et l'hypercholestérolémie (Santamarina et al., 2025). L'expression d'Elovl5 est réduite de 50 % dans le foie des souris obèses nourries avec un régime riche en lipides (Tripathy et al., 2014). Dans cette même étude, la surexpression d'Elovl5 chez des souris obèses a entraîné une réduction des TG hépatiques, une augmentation de leur catabolisme et une hausse des AGPI (EPA et DHA). Cependant, aucune augmentation de l'activité de la β-oxydation n'a été observée, et les AGPI produits ne semblent pas activer PPARα (Tripathy et al., 2014).

De son côté, Elovl2 est essentielle à la production d'AGPI à longue chaîne (> 24 atomes de carbone). Chez des souris obèses, une altération du métabolisme mitochondrial a été observée, ce qui est associé à une réduction de l'expression de l'Elovl2. Cependant, cette diminution d'Elovl2 protège contre la stéatose hépatique et favorise un métabolisme basal plus élevé, réduisant ainsi l'accumulation de graisses hépatiques. Chez des souris Elovl2 KO (knockout), une altération du métabolisme mitochondrial a été observée, avec une efficacité réduite de la phosphorylation oxydative et une fuite accrue de protons. Ces souris semblaient protégées contre la stéatose hépatique et présentaient un métabolisme basal plus élevé, limitant ainsi l'accumulation de graisses hépatiques. Ainsi, Elovl2 apparaît comme un régulateur clé du

métabolisme lipidique et énergétique, pouvant remédier à l'obésité à travers ses effets sur les mitochondries et l'homéostasie des AGPI (Gómez Rodríguez et al., 2022).
Ces mécanismes contribuent aux déséquilibres métaboliques associés à l'obésité prolongée, tels que la NAFLD et la résistance à l'insuline. Parmi les facteurs métaboliques visant à limiter le développement de l'obésité, il a été démontré chez des souris obèses, qu'induire l'activation de PPARα permet de résister au développement de l'obésité et aux troubles métaboliques associés (Huang et al., 2012).

L'obésité nutritionnelle ne se limite pas à des altérations hépatiques. Elle affecte également d'autres tissus. Parmi ceux-ci, le muscle squelettique subit des perturbations de son métabolisme en réponse à un excès d'AGL circulant, ce qui peut entraîner une réduction de son métabolisme énergétique et contractile.

3.7. Impact de l'obésité sur le muscle strié squelettique

Comme cela a été présenté dans la section 1.4, le muscle squelettique joue un rôle central dans l'homéostasie énergétique en captant les substrats circulants, tels que le glucose et les acides gras, qu'il oxyde pour produire de l'ATP. Ce processus contribue activement à la régulation de la glycémie et à l'équilibre lipidique. Toutefois, en situation de surcharge nutritionnelle, notamment en cas d'excès de lipides et de glucides (accentuée par la sédentarité), la capacité du muscle à stocker et à oxyder ces substrats est altérée. Cela conduit à une résistance métabolique, caractérisée par une diminution de la captation et de l'utilisation des substrats énergétiques. Par ailleurs, des altérations vasculaires précoces, liées au stress oxydatif et à la surproduction d'ERO, peuvent précéder l'obésité et contribuer à la dysfonction métabolique du muscle squelettique.

3.7.1. Rôle du stress oxydatif sur la fonction endothéliale vasculaire précédant l'obésité

Le stress oxydatif vasculaire précoce est désormais reconnu comme un facteur causal potentiel dans le développement de l'obésité et du syndrome métabolique, et non uniquement comme une conséquence de ces pathologies.
Des études expérimentales ont démontré que la surproduction d'ERO, comme l'activation de la NADPH oxydase, entraîne une dysfonction endothéliale dès les premières étapes de l'obésité

(Montezano and Touyz, 2012; Youn et al., 2014). En effet, la production excessive d'ERO dans les cellules endothéliales provoque une diminution de la biodisponibilité de NO, altérant non seulement la fonction endothéliale mais aussi la régulation du tonus des cellules musculaires lisses vasculaires, conduisant à une altération précoce de la fonction endothéliale (Montezano and Touyz, 2012). Cette dysfonction est caractérisée par une activation de l'endothélium qui adopte un état pro-inflammatoire, pro-coagulant et prolifératif, conditions favorisant l'athérogenèse (Dimitrijevic-Sreckovic et al., 2007). Les ROS induisent également l'oxydation des LDL et l'expression accrue des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales, facilitant l'infiltration des monocytes dans la paroi vasculaire, ce qui participe à l'inflammation locale et à la formation de plaques athéromateuses (Hadi et al., 2005). De plus, le stress oxydatif accroît la perméabilité vasculaire et favorise l'adhésion des leucocytes, amplifiant ainsi la réponse inflammatoire (Dimitrijevic-Sreckovic et al., 2007).

L'accumulation précoce d'AGL dans les tissus non adipeux, notamment en contexte de syndrome métabolique, entraîne une augmentation de la β-oxydation mitochondriale. Cette dernière engendre une production excessive d'anions superoxydes par la chaîne de transport des électrons mitochondriale, contribuant à la surproduction d'ERO (Galili et al., 2007). Cette surcharge mitochondriale augmente le rapport $NADH/NAD^+$ et active la protéine kinase C, qui stimule à son tour la NADPH oxydase, renforçant ainsi la génération d'ERO (Poitout and Robertson, 2008). La protéine kinase C active également des voies inflammatoires majeures telles que NF-κB et TGF-β, établissant un lien direct entre stress oxydatif et inflammation vasculaire (Čolak and Majkić-Singh, 2009).

Ces mécanismes précoces de stress oxydatif vasculaire contribuent donc à créer un environnement propice à l'inflammation et à l'insulino-résistance, qui précèdent souvent le développement de l'obésité. Ainsi, les altérations précoces induites par le stress oxydatif vasculaire et l'activation des voies inflammatoires créent un environnement propice à l'accumulation des acides gras dans le muscle squelettique, établissant les bases de la résistance à l'insuline et des perturbations du métabolisme glucidique observées en contexte d'obésité.

3.7.2. Rôle des acides gras dans le développement de la résistance à l'insuline et l'altération du métabolisme glucidique

Hypothèses de la résistance à l'insuline induite par les lipides

Les mécanismes par lesquels l'obésité et les acides gras contribuent à la résistance à l'insuline restent partiellement élucidés, et plusieurs hypothèses ont été avancées. Initialement, la théorie

du cycle glucose-acide gras formulée par Randle suggérait que l'augmentation de la disponibilité des acides gras favorisait leur oxydation au détriment de celle du glucose, entraînant ainsi une inhibition de l'utilisation de ce dernier. Cette hypothèse a été confirmée dans le muscle squelettique humain après une heure de perfusion de TG (Boden et al., 1991). De plus, des études ultérieures utilisant la spectroscopie par résonance magnétique ont révélé qu'après cinq heures de perfusion lipidique, la concentration en glucose-6-phosphate diminuait au lieu d'augmenter. Ces observations indiquent que la résistance à l'insuline induite par les acides gras résulte davantage d'un défaut du transport ou de la phosphorylation du glucose (première étape avant la glucose-6-phosphate) que d'une inhibition de la glycolyse dans le muscle squelettique (**Figure 33**).

Déséquilibre des voies métaboliques lipidiques musculaires

Le muscle squelettique n'étant pas un tissu spécialisé dans le stockage des lipides, un excès d'acides gras peut altérer les voies métaboliques impliquées dans leur oxydation. En effet, la voie lipogénique correspond à la synthèse et au stockage des lipides, tandis que la voie oxydative permet leur dégradation pour produire de l'énergie. Lorsqu'un déséquilibre est induit entre ces deux procédés, cela participe au développement d'une résistance à l'insuline dans le tissu musculaire (Gilbert, 2021). Cette résistance à l'insuline est associée à une accumulation de TG et de métabolites lipidiques dans le cytosol musculaire en raison d'une oxydation lipidique mitochondriale altérée (Morino et al., 2006; Ruderman et al., 1999). En revanche, des études ont montré que les athlètes d'endurance présentent des niveaux de TG intramusculaires similaires, voire supérieurs, à ceux des individus atteints de diabète de type 2, sans développer de résistance à l'insuline, un phénomène connu sous le nom de « paradoxe de l'athlète » (Li et al., 2019).

Métabolites lipidiques impliqués dans le développement de la résistance à l'insuline

D'autres travaux ont exploré le rôle potentiel de certains métabolites lipidiques dans la régulation de la sensibilité à l'insuline. Il a été montré que la concentration intracellulaire de diacylglycérol est élevée dans le muscle de rongeurs et d'humains présentant une résistance à l'insuline, suggérant son implication dans ce processus (**Figure 33**) (Itani et al., 2002). De plus, la composition des acides gras, notamment leur longueur et leur degré de saturation, influence la résistance à l'insuline musculaire. Chez l'Homme, la concentration d'acyl-CoA à longue chaîne et la proportion d'acides gras saturés dans les lipides intramyocellulaires sont corrélées à la résistance à l'insuline (Ellis et al., 2000). En effet, le palmitate favoriserait la synthèse des

céramides (Frangioudakis et al., 2010). De plus, l'inhibition de la synthèse des céramides avec la myriocine, un inhibiteur spécifique, a montré une amélioration de la sensibilité à l'insuline sans affecter les niveaux d'acyl-CoA à longue chaîne (Holland et al., 2007).

Les céramides exercent leur effet délétère en inhibant Akt, altérant ainsi la translocation de GLUT4 vers la membrane plasmique, ce qui réduit l'absorption du glucose (**Figure 33**) (Chavez et al., 2003). Les céramides affectent également les mitochondries en réduisant l'activité de la chaîne respiratoire et en augmentant la perméabilité de leur ME, entraînant une diminution de la phosphorylation oxydative et une augmentation de l'apoptose (Chavez and Summers, 2012). Ces observations suggèrent que l'accumulation de lipides intramusculaires, en particulier les diacylglycérols et les céramides, joue un rôle clé dans la résistance à l'insuline musculaire (**Figure 33**).

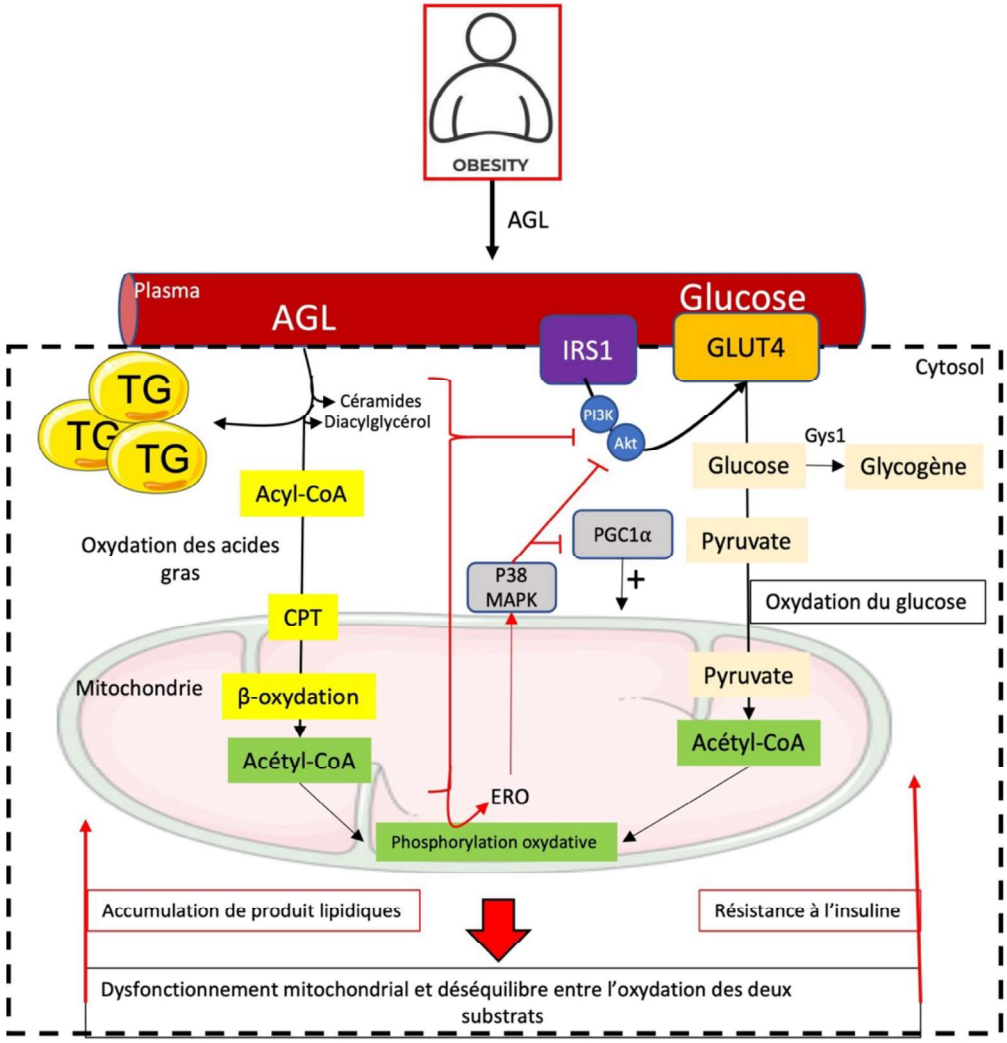


Figure 33 : Mécanismes impliqués dans la résistance à l'insuline induite par les lipides dans le muscle squelettique. AGL : acide gras libre ; TG : triglycerides ; CPT : carnitine palmitoyltransferase ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; IRS1 : insulin receptor substrate 1 ; PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; GLUT4 : glucose transporter type 4 ; Gys1 : glycogen synthase 1 ; PGC1α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha ; P38MAPK : p38 mitogen-activated protein kinase

Voie de signalisation de l'insuline et altérations musculaires

Le transporteur du glucose GLUT4 est régulé par la voie IRS1/PI3K/Akt qui favorise sa translocation vers la membrane plasmique facilitant alors l'entrée du glucose (Lauritzen, 2013). Cependant, l'accumulation d'acides gras dans le cytosol des cellules musculaires peut inhiber la translocation de GLUT4, nécessitant une sécrétion accrue d'insuline pour compenser cette altération. Cette hyperinsulinémie compensatoire contribue ainsi à l'établissement d'une résistance à l'insuline musculaire (Gilbert, 2021). Le glucose dans les cellules musculaires peut être soit oxydé, soit stocké sous forme de glycogène, sous l'action de la glycogène synthase. Pour preuve, une délétion spécifique de Gys1 dans les muscles squelettiques a été associée à une résistance périphérique à l'insuline, empêchant ainsi la captation du glucose. De plus, sur un modèle murin la délétion de Gys1 a induit une hyperglycémie et une hyperinsulinémie après les repas, suggérant un métabolisme du glucose perturbé, caractéristique d'un état de résistance à l'insuline (Xirouchaki et al., 2016). Ainsi, en l'absence de Gys1, le muscle ne peut pas convertir le glucose en glycogène. Cela limite la capacité du muscle à absorber le glucose, contribuant à l'augmentation de la glycémie (Xirouchaki et al., 2016).

Production des ERO et activation de la p38 MAPK

La consommation d'un régime riche en lipides et en sucres chez la souris est associée à une production accrue d'ERO. L'élévation des taux de glucose et d'acides gras dans les cellules musculaires favorise cette production, ce qui entraîne des dommages mitochondriaux altérant leurs fonctions (Bonnard et al., 2008). Ce stress oxydant, combiné à la suralimentation et associé à de l'inflammation, active la voie de signalisation p38 MAPK. Une fois activée, p38 MAPK contribue à l'inhibition du signal insulinique, notamment en phosphorylant IRS1, ce qui réduit la captation du glucose musculaire et contribue à la résistance à l'insuline (Alvaro et al., 2004). La p38 MAPK module également l'accumulation de métabolites lipidiques comme les céramides et les AGL, tout en diminuant l'expression de PGC1α, altérant ainsi le métabolisme oxydatif (**Figure 33**). Toutefois, dans d'autres contextes comme l'exercice physique, l'activation de p38 MAPK peut avoir des effets bénéfiques. En effet, elle améliore la captation du glucose de manière indépendante à l'insuline et stimule le métabolisme oxydatif, contribuant à la prévention de l'obésité et de la résistance à l'insuline (Bengal et al., 2020).

Altérations du métabolisme du glucose dans les myotubes et le muscle squelettique humains

Les données concernant le métabolisme du glucose dans les myotubes humains sont variables. Certaines études ont rapporté une augmentation de la captation et de l'oxydation du glucose chez des individus en surpoids (Lund et al., 2017), tandis que d'autres n'ont observé aucun changement chez des sujets obèses (Gaster, 2007). Une étude récente menée sur un large échantillon n'a trouvé aucune corrélation significative entre l'IMC et le métabolisme du glucose dans les myotubes (Aas et al., 2020). Ces résultats suggèrent que l'obésité modérée n'induit pas systématiquement un dysfonctionnement du métabolisme glucidique, probablement en raison de mécanismes cellulaires adaptatifs. En revanche, dans le muscle squelettique de personnes souffrant d'obésité sévère, des altérations plus nettes ont été observées : réduction de la captation du glucose induite par l'insuline, diminution de l'oxydation mitochondriale, et augmentation de la glycolyse anaérobie et de la production de lactate (Elton et al., 1994; Friedman et al., 1994). Ce profil métabolique est associé à un dysfonctionnement mitochondrial, une acidification intracellulaire, une altération de la signalisation insulinique et une stimulation de la néoglucogenèse hépatique, contribuant à l'hyperglycémie (Goodyear et al., 1995). Sur le plan moléculaire, des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF-α et IL-6 activent des phosphorylations inhibitrices sur IRS1, réduisant la transduction du signal insulinique, et par conséquent, la captation du glucose, la synthèse du glycogène, l'oxydation du glucose et la glycolyse anaérobie (Houmard et al., 2012). Ces altérations seraient plus marquées dans les myotubes que dans le muscle intact (Bell et al., 2010). Enfin, une étude a montré qu'en réponse à l'insuline, les myotubes issus de sujets obèses non diabétiques orientent préférentiellement le glucose vers la glycolyse anaérobie plutôt que vers l'oxydation, en lien avec un dysfonctionnement du cycle de Krebs, notamment une réduction de l'activité d'enzymes clés comme la citrate déshydrogénase, l'isocitrate déshydrogénase et l'α-cétoglutarate déshydrogénase (Zou et al., 2019). L'ensemble de ces perturbations chez des individus obèses comparés à des individus minces (**Figure 34**) entraîne une élévation de la glycémie et une diminution de l'absorption du glucose par les cellules musculaires, favorisant ainsi l'installation d'une résistance à l'insuline susceptible d'évoluer vers un diabète de type 2.

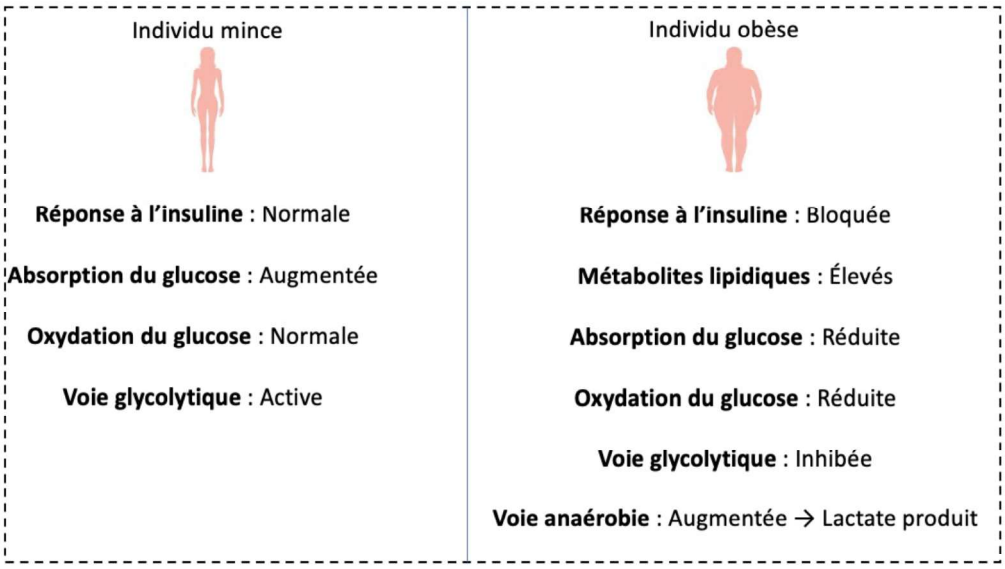


Figure 34 : Comparaison du métabolisme basal du glucose dans le muscle squelettique chez des individus minces et obèses

Les mécanismes perturbant le métabolisme du glucose résultent en partie d'un taux d'AGL circulant trop élevé. En réponse, le métabolisme lipidique, incluant le transport et l'oxydation des acides gras, s'intensifie afin de compenser cette surcharge. Cependant, cette capacité compensatoire est rapidement dépassée, conduisant à une accumulation de lipides intramyocellulaires qui contribue davantage aux altérations du métabolisme glucidique.

3.7.3. Altérations du métabolisme lipidique dans le muscle squelettique

Effet de l'obésité sur la régulation du transport et l'oxydation des acides gras musculaires

En général, le muscle des individus obèses présente une accumulation accrue d'IMTG (Goodpaster et al., 2000), ainsi qu'une capacité oxydative réduite pour les lipides (Kim et al., 2000). Une diminution de l'oxydation des acides gras a été constatée dans des biopsies musculaires de personnes souffrant d'obésité sévère, comparées à celles de sujets minces ou atteints d'obésité modérée (Houmard et al., 2012). Chez des souris soumises à un régime riche en lipides (60 % des calories apportées), il a été montré un impact direct sur l'expression de CD36 dans le muscle squelettique. En effet, ce régime induit une augmentation significative de l'expression de l'ARNm de CD36, facilitant ainsi l'absorption des acides gras à chaîne longue par les cellules musculaires. A l'inverse, un régime pauvre en lipides (10 % des calories apportées) n'a pas provoqué d'augmentation sur l'expression de CD36. (Yun et al., 2020). Lorsque les acides gras sont absorbés, la Fabp4 permet leur transport dans la cellule musculaire.

La Fabp4 est impliquée dans plusieurs processus métaboliques qui modulent l'absorption et l'oxydation des lipides dans les muscles squelettiques (Liu et al., 2022). Au cours d'un régime lipidique (60 % des calories apportées), Fabp4 joue un rôle clé dans le développement de l'obésité et de la résistance à l'insuline du muscle squelettique. Son expression est significativement augmentée dans un contexte d'obésité et de régime hyperlipidique, ce qui contribue au développement de troubles métaboliques, dont le diabète de type 2 (Bosquet et al., 2018). Des inhibiteurs de Fabp4 comme BMS309403, ont été proposés comme agents thérapeutiques potentiels pour contrer ces effets métaboliques négatifs. En effet, l'administration de BMS309403 chez les souris ob/ob a permis une restauration de la sensibilité à l'insuline et une réduction des niveaux de glucose et de TG plasmatiques (Bosquet et al., 2018; Furuhashi et al., 2007). D'autre part, il a été démontré qu'un apport élevé en lipides stimule l'activité de CPT1, ce qui devrait augmenter l'oxydation des acides gras dans les muscles squelettiques. Toutefois, cette augmentation entraine une accumulation d'intermédiaires lipidiques car le processus d'oxydation mitochondriale est dysfonctionnel. Ainsi, il a été rapporté, que l'utilisation chez des souris de l'oxfenicine, comme inhibiteur de CPT1, permet d'inverser cet effet délétère. En effet, cette inhibition favorise la translocation de GLUT4 vers la membrane cellulaire, permettant ainsi une meilleure captation du glucose et une augmentation de l'oxydation du glucose via la PDH, améliorant ainsi la tolérance au glucose. Ainsi, bien que l'activation de CPT1 soit normalement associée à un métabolisme accru des lipides dans un contexte d'obésité, l'inhibition de cette enzyme semble être une stratégie bénéfique pour améliorer la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose (Keung et al., 2013). Plus récemment, des travaux ont également montré que l'inhibition de la sérine palmitoyltransférase, une enzyme impliquée dans la biosynthèse des céramides, induisait des effets comparables à l'inhibition de CPT1 et restaurait en partie la sensibilité à l'insuline en réduisant la phosphorylation inhibitrice d'Akt (Imierska et al., 2022). Ainsi, dans le contexte de l'obésité, le métabolisme du muscle squelettique semble principalement s'orienter vers l'estérification et le stockage des acides gras sous forme de TG et d'autres lipides intracellulaires, plutôt que vers une oxydation mitochondriale. Cette réorientation métabolique est favorisée par l'élévation des niveaux de malonyl-CoA, qui inhibe l'entrée des acides gras dans la mitochondrie, réduisant ainsi leur dégradation et favorisant leur accumulation sous forme de réserves lipidiques (Bandyopadhyay et al., 2006).

Implication des mitochondries dans le processus de saturation d'oxydation

La réduction de la capacité oxydative observée en cas d'obésité et/ou de diabète de type 2 pourrait être liée à une diminution de la quantité de mitochondries musculaires. En effet, bien que la fonction mitochondriale ne soit pas altérée, la capacité oxydative globale du muscle squelettique est réduite en raison d'une diminution de la quantité de mitochondries par unité de masse musculaire (Boushel et al., 2007). Cette baisse du nombre de mitochondries est associée à une diminution des enzymes oxydatives et des cofacteurs de la biogenèse mitochondriale, comme PGC1α, ce qui limite la capacité du muscle à utiliser efficacement les substrats énergétiques. Cette diminution de la densité mitochondriale pourrait contribuer à des altérations métaboliques plus larges, notamment l'accumulation de lipides intramusculaires, la résistance à l'insuline et l'intolérance au glucose. En revanche, lorsque l'oxydation du substrat est normalisée par rapport à l'ADN mitochondrial ou à l'activité de la citrate synthase (indicateurs de la densité mitochondriale), les capacités de transport des électrons et de phosphorylation oxydative apparaissent similaires entre les sujets diabétiques et les sujets sains. Cela suggère que l'altération du métabolisme musculaire dans l'obésité est davantage liée à une réduction du nombre total de mitochondries qu'à un dysfonctionnement intrinsèque de ces dernières (Boushel et al., 2007).

D'autre part, chez des souris où l'obésité est induite par un régime riche en lipides (42 % des calories apportées avec 1,5 g de cholestérol par kg de régime), la régulation de PGC1α est altérée, réduisant son activation et compromettant la fonction mitochondriale. L'augmentation de la densité mitochondriale ne suffisant pas, les mitochondries deviennent dysfonctionnelles, en raison d'une biogenèse altérée, d'un déséquilibre entre fusion et fission (favorisant la fragmentation) et d'une mitophagie inefficace (Greene et al., 2015). De plus, PGC1α stimule la transcription des régulateurs de la fusion mitochondriale, mais leur expression protéique est inhibée. Cette dérégulation entraîne une accumulation de mitochondries endommagées, contribuant à une intolérance au glucose (Greene et al., 2015).

Finalement, cibler la qualité mitochondriale plutôt que leur quantité pourrait constituer une approche thérapeutique plus efficace contre l'obésité et l'insulinorésistance. Les deux études précédemment décrites, suggèrent que dans les premiers stades de l'obésité, il y a une perte de mitochondries et lorsque l'obésité est chronique, une accumulation de mitochondries dysfonctionnelles est observée. L'élément commun entre ces études est que la capacité oxydative du muscle est compromise, mais les causes pourraient varier en fonction du stade de la maladie ou du modèle d'étude utilisé **(Tableau 4).**

Paramètres	Individu mince	Individu obèse	Régime riche en lipides (chez l'animal)
IMTG	Faible accumulation	Forte accumulation	Augmentation
Oxydation des acides gras	Haute capacité	Réduction	Altération à long terme, malgré l'augmentation du transport des acides gras
CD36	Expression modérée, absorption normale des acides gras	Expression accrue favorisant une absorption excessive des acides gras	Expression accrue facilitant l'absorption des acides gras à chaîne longue
Fabp4	Expression modérée, métabolisme lipidique équilibré	Expression forte, contribuant à la résistance à l'insuline et aux troubles métaboliques	Augmentation de l'expression, facilitant l'absorption des acides gras
CPT1	Fonctionnement optimal, oxydation des graisses assurée	Dysfonctionnement de CPT1, accumulation de graisses et perturbation de la signalisation de l'insuline	Augmentation de l'activité de CPT1, mais peut conduire à une accumulation d'intermédiaires lipidiques
Densité mitochondriale	Élevée et fonction optimale	Diminution, affectant la capacité oxydative	Augmentée mais mitochondries moins fonctionnelles
Qualité mitochondriale (Fusion/Fission)	Maintien de l'équilibre entre fusion et fission	Dysfonction mitochondriale, fragmentation accrue, mitophagie inefficace	Altération de l'équilibre, fragmentation des mitochondries
PGC1α	Expression optimale, favorisant la biogenèse mitochondriale	Dérégulation, réduction de la qualité mitochondriale, accumulation de mitochondries dysfonctionnelles	Altération et biogenèse mitochondriale limitée

Tableau 4 : Comparaison des effets du régime riche en lipides et de l'obésité sur le métabolisme lipidique et la qualité mitochondriale dans le muscle squelettique. IMTG : intramuscular triglyceride ; CD36 : cluster of differentiation 36 ; Fabp4 : fatty acid binding protein 4 ; CPT1 : carnitine palmitoyltransferase 1 ; PGC1α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

En raison des multiples altérations métaboliques induites par l'obésité, il est essentiel de développer des stratégies visant à limiter sa progression. Parmi les facteurs favorisant son développement, la sédentarité occupe une place centrale et tend à s'intensifier dans les sociétés modernes. Ainsi, la promotion de l'activité physique, en particulier de l'exercice d'endurance, constitue une approche thérapeutique efficace pour prévenir et atténuer les effets de l'obésité.

4. L'entraînement en endurance

Après avoir examiné en détail les causes, les conséquences et les enjeux de l'obésité, il apparaît indispensable de se tourner vers des stratégies permettant de limiter les effets, tant sur le plan individuel que collectif. Parmi les approches non médicamenteuses, l'activité physique joue un rôle central. En particulier, l'entraînement en endurance s'impose comme une modalité d'intervention efficace, à la fois accessible, adaptable et largement documentée dans la littérature scientifique. Ses effets bénéfiques sur la composition corporelle, la dépense énergétique, le métabolisme et la santé cardiovasculaire en font un outil de choix dans la prise en charge de l'obésité.

4.1. Définition

Au fil du temps, la course d'endurance a connu de nombreuses évolutions, notamment avec l'essor des technologies portables ces dernières décennies. Ces dispositifs permettent aux coureurs et aux cyclistes d'enregistrer une grande quantité de données sur la vitesse, la distance, la fréquence cardiaque et l'accélération (Emig and Peltonen, 2020). Aujourd'hui, les athlètes d'endurance téléchargent plus d'un milliard de données par an à partir de capteurs GPS. Ces données offrent une opportunité précieuse pour surveiller la physiologie humaine de manière non invasive et dans des conditions réelles, en dehors des environnements de laboratoire. Elles ouvrent ainsi la voie à une meilleure compréhension des mécanismes de la fatigue, de l'adaptation physiologique et de l'optimisation de la performance. L'analyse de la réponse physiologique à l'activité physique fournit ainsi des informations essentielles pour des profils variés, allant des athlètes d'élite aux pratiquants amateurs, en passant par les patients en rééducation (Gibala et al., 2012).

L'entraînement en endurance aérobie, en particulier chez les coureurs, repose sur une interaction complexe entre des facteurs physiologiques, biomécaniques et environnementaux. Il joue un rôle clé dans l'amélioration des performances en course longue distance, en influençant des paramètres essentiels tels que la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2max$), le seuil lactique et l'économie de course. Si la $\dot{V}O_2max$ reste longtemps considérée comme le principal indicateur de performance en endurance, son impact devient moins déterminant au-delà du seuil d'environ 70 mL/kg/min. À ce stade, c'est l'économie de course, soit l'efficacité avec laquelle un coureur utilise son énergie pour maintenir une vitesse donnée, qui joue un rôle prépondérant (Barnes and Kilding, 2015; Foster, 1983). Une meilleure

économie de course signifie que le coureur consomme moins d'oxygène et donc moins d'énergie pour parcourir une distance donnée à vitesse constante, par rapport à un coureur ayant une économie de course moins optimisée (Fletcher et al., 2009). Par ailleurs, la vitesse maximale aérobie (VMA) est déterminée à l'aide de tests progressifs au cours desquels l'allure de course augmente par paliers successifs jusqu'à l'épuisement. Définie comme la vitesse correspondant à 100 % du $\dot{V}O_2max$, elle constitue un facteur clé de la performance en course (Pallarés et al., 2019). Couramment utilisée pour ajuster les intensités d'entraînement, elle peut être améliorée, tout comme la $\dot{V}O_2max$, grâce à des entraînements d'endurance de haute intensité (Rodríguez-Barbero et al., 2025).

Il existe différents types de modalités d'exercice aérobie (**Tableau 5)**, en mettant en lumière leurs caractéristiques clés telles que l'intensité, la durée, la structure de l'effort, ainsi que leurs effets métaboliques et cardiovasculaires. Cette comparaison inclut le low-intensity continuous training (LICT), le moderate-intensity continuous training (MICT) et le high-intensity interval training (HIIT), qui sont les formes d'entraînement les plus couramment étudiées dans la littérature scientifique (Gibala et al., 2012; Hawley, 2002)

Modalité d'exercice	Intensité	Durée typique	Structure de l'effort	Exemple d'application	Effets principaux observés
LICT (Low-Intensity Continuous Training)	Faible (< 40-50 % VMA)	Longue (≥ 30 min à plusieurs heures)	Effort continu à faible intensité	Marche lente, vélo léger	Amélioration de l'endurance, faible stress métabolique
MICT (Moderate-Intensity Continuous Training)	Modérée (50-70 % VMA)	Moyenne (30-60 min)	Effort continu à intensité modérée	Course à pied modérée, natation	Amélioration de la capacité cardiovasculaire, contrôle glycémique
HIIT (High-Intensity Interval Training)	Élevée (≥ 80 % VMA)	Courte (10-30 min)	Intervalles d'effort intense alternés avec récupération	Sprints, entraînement fractionné en vélo	Gain rapide en VMA, amélioration métabolique, réduction du temps d'entraînement

Tableau 5 : Synthèse des modalités d'exercice aérobie

De plus, l'entraînement en endurance peut être classé en deux grandes catégories : l'entraînement continu et l'entraînement par intervalles. L'entraînement continu se caractérise par un effort soutenu et prolongé, favorisant principalement le développement de l'endurance aérobie. Il correspond, par exemple, à une course de 60 minutes à une intensité modérée. L'entraînement par intervalles, quant à lui, consiste à alterner des phases d'effort intense et des

périodes de récupération, comme une séance de 10 x 400 mètres avec 1 minute de récupération active à haute intensité. Cette méthode est particulièrement efficace pour améliorer la capacité anaérobie, la tolérance au lactate et la VMA. Ces deux approches sont bien documentées dans la littérature scientifique, bien qu'elles soient souvent étudiées séparément (González-Mohíno et al., 2020).

L'entraînement physique induit des adaptations cellulaires dans l'ensemble des tissus de l'organisme. Toutefois, le tissu musculaire, directement sollicité lors de l'exercice, constitue le principal site de ces adaptations. Son étude est donc essentielle pour comprendre les mécanismes physiologiques à l'origine des améliorations de la performance et des modifications métaboliques induites par l'entraînement.

4.2. Impact de l'entraînement en endurance sur le muscle squelettique

L'entraînement physique induit des adaptations au sein du tissu musculaire, notamment par des mécanismes de dégradation et de synthèse des protéines du matériel contractile, favorisant ainsi une amélioration progressive de la fonction musculaire. Par ailleurs, ces adaptations s'accompagnent de modifications du phénotype des fibres musculaires, avec des variations dans leur proportion en fonction du type et de l'intensité de l'entraînement. Enfin, l'exercice régulier entraîne un remodelage du métabolisme énergétique musculaire, caractérisée par une modulation de l'utilisation des substrats énergétiques.

4.2.1. Modifications de la balance protéique

Le maintien de la masse musculaire repose sur un équilibre dynamique entre la synthèse et la dégradation des protéines, régulé par diverses voies de signalisation interconnectées **(Figure 35**).

L'anabolisme protéique

La traduction des ARNm en protéines dépend de deux éléments clés : l'efficacité translationnelle, définie par la quantité de protéines produites par unité d'ARN total, et la capacité translationnelle, principalement déterminée par la teneur en ribosomes dans le tissu (Millward et al., 1973). La voie PI3K/Akt/ mTOR (mammalian target of rapamycin) constitue le principal régulateur de la synthèse protéique dans le muscle squelettique et intervient aux différentes étapes de la traduction (**Figure 35**) (Ilha et al., 2018). L'IGF-1 (insulin-like growth

factor 1) est un facteur de croissance structurellement proche de l'insuline, qui favorise l'hypertrophie musculaire en stimulant l'anabolisme des protéines. Lorsqu'il se lie à son récepteur (IGF1R), cela induit l'autophosphorylation du récepteur sur des résidus tyrosine. Cette activation permet ensuite le recrutement d'IRS1 (Ahmad et al., 2020). Ce dernier active ensuite PI3K, qui à son tour active Akt (Schiaffino and Reggiani, 2011). Akt inhibe TSC1/TSC2 (tuberous sclerosis complex 1/2) (Inoki et al., 2003), ce qui permet à la GTPase Rheb (ras homolog enriched in brain) d'activer mTOR, (Schiaffino et al., 2021). Par ailleurs, l'IGF-1 et l'insuline peuvent aussi activer mTOR *via* la voie des MAPK (mitogen-activated protein kinases) et les kinases régulées par ERK1 et 2 (extracellular signal-regulated kinases 1 et 2) (Miyazaki et al., 2011). Une fois activé, mTOR favorise la biogenèse ribosomale et l'initiation de la traduction en stimulant la protéine kinase p70S6 et en inhibant 4E-BP1 (eukaryotic translation initiation factor 4e-binding protein 1) (Schiaffino et al., 2021). mTOR est une kinase sérine/thréonine constituant le cœur de deux complexes distincts : mTORC1 et mTORC2 (Laplante and Sabatini, 2009). mTORC1 joue un rôle central dans la synthèse protéique, contrairement à mTORC2 (Szwed et al., 2021). L'exercice aérobie et certaines molécules, comme l'AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribonucléoside) peuvent inhiber mTOR *via* l'AMPK (AMP-activated protein kinase), un capteur énergétique cellulaire (**Figure 35**) (Thomson, 2018). Une augmentation du rapport AMP/ATP, observée lors d'un exercice d'endurance, entraîne l'activation de l'AMPK, qui stimule les processus cataboliques tout en inhibant directement mTOR ou en passant par TSC2 pour l'inhiber (Inoki et al., 2003; Sanchez et al., 2012). L'AMPK est également influencé par la disponibilité des acides aminés, comme la leucine, suffisante à activer mTOR et à favoriser ainsi la synthèse protéique (Ribeiro et al., 2015).

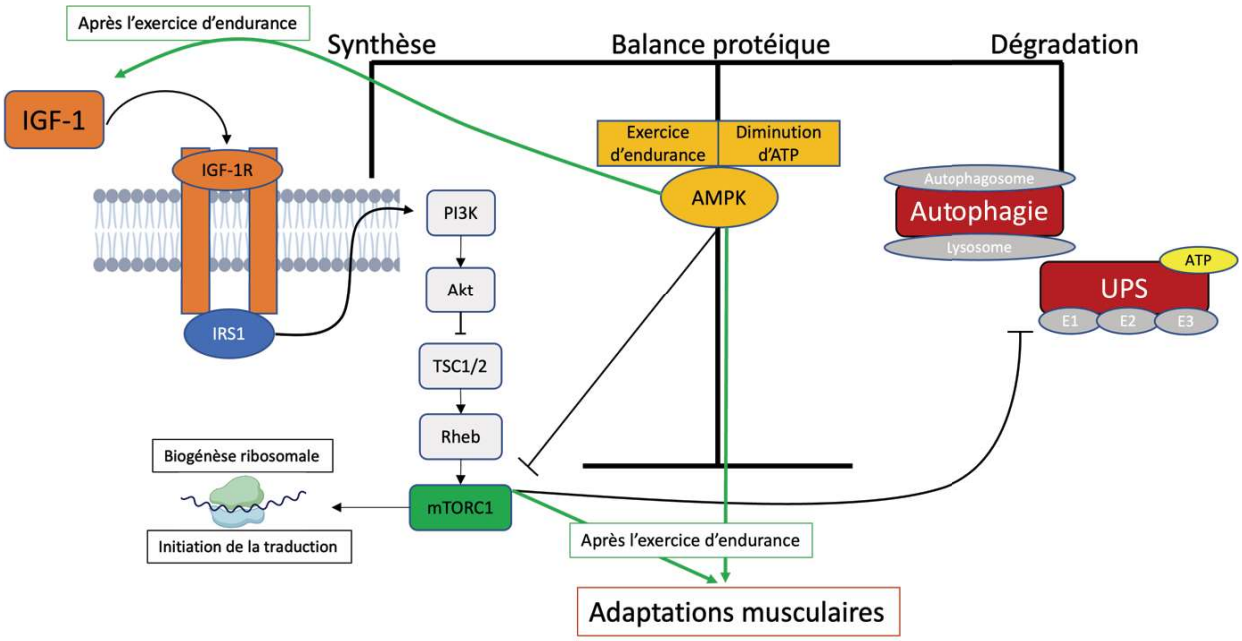


Figure 35 : Balance protéique conduisant aux adaptations musculaires. IGF-1: insulin-like growth factor 1 ; IGF-1R : insulin-like growth factor 1 receptor ; IRS1: insulin receptor substrate 1 ; PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase ; Akt : protein kinase B ; TSC1/2 : tumor suppressor complex 1 and 2 ; Rheb : Ras homolog enriched in brain ; mTORC1 : mammalian target of rapamycin complex 1 ; AMPK : AMP-activated protein kinase ; UPS : ubiquitin-proteasome system

Le catabolisme protéique

En parallèle de la synthèse protéique, la dégradation des protéines musculaires est assurée par deux voies principales : l'autophagie et l'UPS (**Figure 35**). L'autophagie, essentielle à l'homéostasie musculaire, permet la dégradation des mitochondries défectueuses et des protéines mal repliées (Klionsky et al., 2007; Settembre and Ballabio, 2014). Ce processus comprend cinq étapes : induction, nucléation, élongation et isolement du substrat, puis fusion avec les lysosomes (Li et al., 2022). Son activation est déclenchée par divers stress cellulaires, et est régulée par le complexe unc-51 like kinase (ULK), par ATG13 (autophagy-related protein 13) et par FIP200 (FAK family interacting protein of 200 kDa) (Li et al., 2022). mTORC1 joue un rôle central dans l'inhibition de l'autophagie en phosphorylant ULK1, empêchant ainsi l'activation du complexe d'initiation autophagique (Zhao et al., 2015). Enfin, la fusion des lysosomes avec l'autophagosome permet la dégradation de son contenu et la libération d'acides aminés (Levine and Klionsky, 2004). Le système UPS, quant à lui, cible les protéines cytoplasmiques, nucléaires et mitochondriales *via* un processus non lysosomal nécessitant l'ATP (Germain, 2008). Il repose sur une cascade enzymatique impliquant trois enzymes : E1, E2 et E3 pour diriger les protéines vers l'autophagosome (Li et al., 2022).

Ces mécanismes assurent une régulation fine entre la synthèse et la dégradation des protéines (**Figure 35**), essentielle au maintien de la fonction musculaire. L'entraînement en endurance influence cette balance en stimulant principalement la synthèse des protéines mitochondriales et sarcoplasmiques, tout en modulant la synthèse myofibrillaire. Après un exercice aigu d'endurance, la synthèse des protéines musculaires est augmentée, principalement au niveau mitochondrial, sans impact significatif sur la synthèse myofibrillaire (Wilkinson et al., 2008). Ainsi, l'entraînement en endurance active les voies de signalisation de la synthèse protéique (Akt/mTOR) mais stimule uniquement la synthèse des protéines mitochondriales, conduisant à l'augmentation de l'endurance musculaire et de l'efficacité énergétique (Wilkinson et al., 2008). En revanche, Di Donato et al. ont suggéré que l'intensité de l'exercice pouvait influencer la synthèse myofibrillaire. En effet, il a été démontré que l'exercice d'endurance stimule la synthèse myofibrillaire durant les premières heures de récupération (0,5–4,5 h). Toutefois, seule une endurance de haute intensité prolonge cette stimulation jusqu'à 24–28 heures après l'exercice, soulignant l'importance de l'intensité de l'exercice physique dans le remodelage musculaire. Ils suggèrent également que la synthèse des protéines mitochondriales ne s'accroît pas en condition de jeûne après l'exercice. Un apport en acides aminés et en glucides serait nécessaire pour induire une augmentation de l'insuline, une condition favorable à cette synthèse protéique. Ces observations démontrent l'existence de deux phases de synthèse protéique selon l'apport nutritionnel post-effort (Di Donato et al., 2014). Toutefois, bien que la synthèse myofibrillaire puisse être stimulée après un exercice aérobie, son rôle semble davantage lié au maintien et à l'adaptation structurelle du muscle plutôt qu'à une hypertrophie marquée (Bagheri et al., 2022).

Les mécanismes d'adaptation musculaire influencés par l'entraînement en endurance, notamment la régulation de la synthèse et de la dégradation des protéines, interagissent directement avec la transition des fibres musculaires. Cette transformation est particulièrement prononcée chez les athlètes novices et se stabilise avec l'adaptation progressive du muscle induit par l'entraînement.

4.2.2. Adaptations phénotypiques des fibres musculaires

L'entraînement en endurance favorise une transition des fibres musculaires vers un phénotype plus oxydatif, en raison de l'augmentation de la consommation d'oxygène induite par ce type d'exercice. Ce phénomène apparaît plus marqué chez les athlètes débutants et tend à ralentir à

mesure que l'adaptation du tissu musculaire progresse, atteignant une composition enrichie en fibres de type I (Gehlert et al., 2012).

L'étude de Luden et al. a analysé les effets de 13 semaines d'entraînement en vue d'un marathon, suivies d'une réduction progressive de l'entraînement sur trois semaines, chez des coureurs novices (Luden et al., 2012). Des biopsies musculaires du *vastus lateralis* et du soléaire (SOL) ont révélé, dans le *vastus lateralis*, une augmentation de la proportion de fibres de type I (de 42,6 % à 48,6 %) et des fibres I/IIa (de 5,1 % à 8,2 %). Dans le SOL, reconnu pour sa composition en fibres de type I (Komiya et al., 2017; Vandervoort and McComas, 1983), la transition a été moins marquée. Cela indique que certains muscles présentent une plus grande capacité d'adaptation que d'autres. Les biopsies ayant été réalisées après trois semaines de réduction d'entraînement, il est possible que la proportion de fibres lentes aurait été encore plus élevée si les mesures avaient été effectuées immédiatement après l'entraînement intensif.

D'autres études corroborent ces résultats, indiquant une augmentation de la proportion de fibres de type I ou une transition vers un phénotype plus oxydatif après un entraînement en endurance (Costill et al., 1976; Fink et al., 1977; Howald et al., 1985; Jansson et al., 1978; Trappe et al., 2006). Cependant, ces recherches s'inscrivent sur des périodes relativement courtes, ne permettant pas d'évaluer pleinement l'impact d'un entraînement prolongé sur la transformation des fibres musculaires. L'étude de Bathgate et al. a montré les effets à long terme de l'entraînement. En analysant des jumeaux dont l'un est resté sédentaire et l'autre a pratiqué l'endurance sur plus de trente ans, le jumeau entraîné possédait un *vastus lateralis* composé à 95 % de fibres de type I, soit 55 % de plus que son frère. Ce dernier présentait une proportion plus importante de fibres IIa et hybrides (Bathgate et al., 2018). Ces résultats suggèrent que la plasticité musculaire peut être influencée par des décennies d'entraînement, bien que des variations individuelles existent (Plotkin et al., 2021).

Une fois que les adaptations musculaires induites par l'entraînement en endurance favorisent une transformation des fibres vers un phénotype plus oxydatif, ces changements sont également accompagnés de modifications au niveau des voies métaboliques, particulièrement celles impliquées dans la gestion de l'énergie cellulaire.

4.2.3. Effets de l'entraînement aérobie sur le métabolisme énergétique et les adaptations musculaires associées

4.2.3.1. Activation de l'AMPK et de la biogénèse mitochondriale

Pour rappel, l'augmentation du rapport AMP/ATP induite par la contraction musculaire active l'AMPK, indiquant une diminution des réserves d'ATP (Cantó and Auwerx, 2009). Ce capteur énergétique, une fois activé, inhibe les voies consommatrices d'ATP tout en favorisant celles impliquées dans sa production (Cantó and Auwerx, 2009). Ainsi, l'AMPK stimule l'absorption du glucose, la glycolyse et l'oxydation des acides gras, tout en inhibant la synthèse du glycogène et des protéines (**Figure 36**). Une activation prolongée de l'AMPK induit des adaptations chroniques à l'exercice d'endurance, notamment par la surexpression de PGC1α (**Figure 36**) (Pilegaard et al., 2003).

L'exercice prolongé et les contractions musculaires répétées activent également la voie métabolique impliquant la p38 MAPK, entraînant la stimulation de PGC1α et de Nrf1, deux régulateurs majeurs de la biogenèse et de la dynamique mitochondriale (**Figure 36**). L'expression de ces protéines est augmentée en réponse à l'entraînement, ceci étant positivement associé au métabolisme énergétique oxydatif et à la transition vers des fibres musculaires lentes (Lin et al., 2002; Wu et al., 1999). Par ailleurs, les ERO produites par les mitochondries lors de l'exercice activent également la voie p38 MAPK, contribuant ainsi à l'activation de PGC1α (**Figure 36**). Ces ERO sont régulées par le facteur de transcription Nrf2, qui contrôle leur quantité. Cette boucle de régulation intégrée est essentielle aux adaptations énergétiques du muscle en réponse à l'entraînement en endurance (**Figure 36**) (Drake et al., 2016; Jung and Kim, 2014; Tiraby and Langin, 2005).

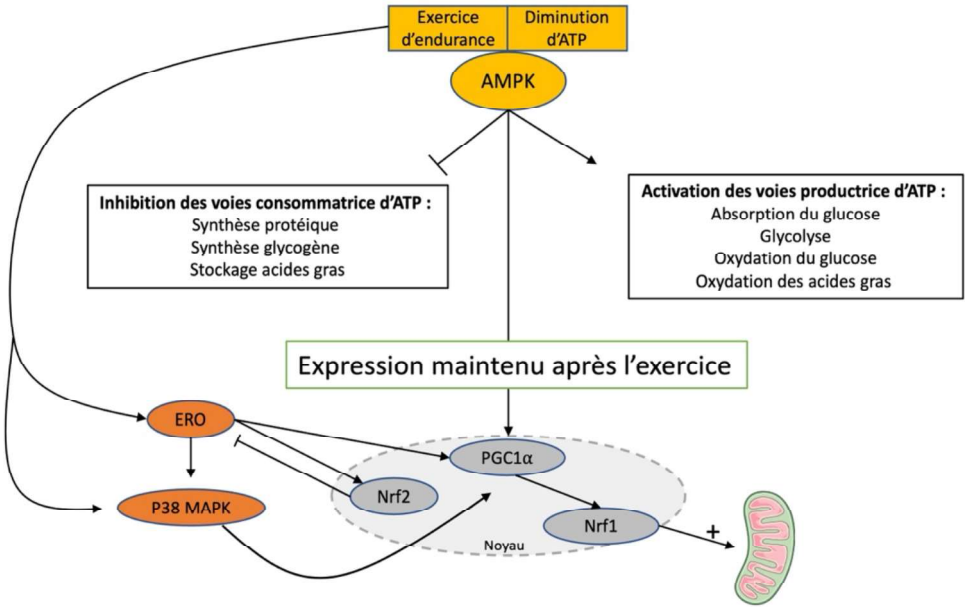


Figure 36 : Régulation énergétique et biogenèse mitochondriale en réponse à l'exercice d'endurance. AMPK : AMP-activated protein kinase ; ATP : adenosine triphosphate ; ROS : reactive oxygen species ; p38 MAPK : p38 mitogen-activated protein kinase ; Nrf2 : nuclear factor erythroid 2–related factor 2 ; PGC1α : peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha ; Nrf1 : nuclear factor erythroid 2–related factor 1

4.2.3.2. Oxydation du glucose et stockage

L'entraînement en endurance influence les substrats énergétiques utilisés lors de l'exercice (**Figure 37**). En conditions physiologiques, la teneur en glycogène musculaire varie entre 300 et 400 mmol d'unités glucosyles par kg de masse sèche (Essén, 1977). Toutefois, l'entraînement et l'alimentation peuvent accroître cette réserve à environ 700-900 mmol d'unités glucosyles par kg de masse sèche (Sherman et al., 1981). Malgré cette capacité d'augmentation, les réserves de glycogène restent limitées (< 4170 mmol d'unités glucosyles ou 3000 kcal) et peuvent ainsi restreindre la durée d'un exercice d'intensité modérée à élevée (≈50-85 % $\dot{V}O_2max$ pendant plus de 45 minutes). L'intensité de l'exercice module la dégradation du glycogène musculaire, ce qui pourrait influencer sa capacité de resynthèse après l'effort (Graham et al., 2001). Ainsi, la quantité de glycogène stockée avant l'exercice constitue un paramètre clé, car elle détermine la vitesse de sa mobilisation durant l'activité physique (Arkinstall et al., 2004).

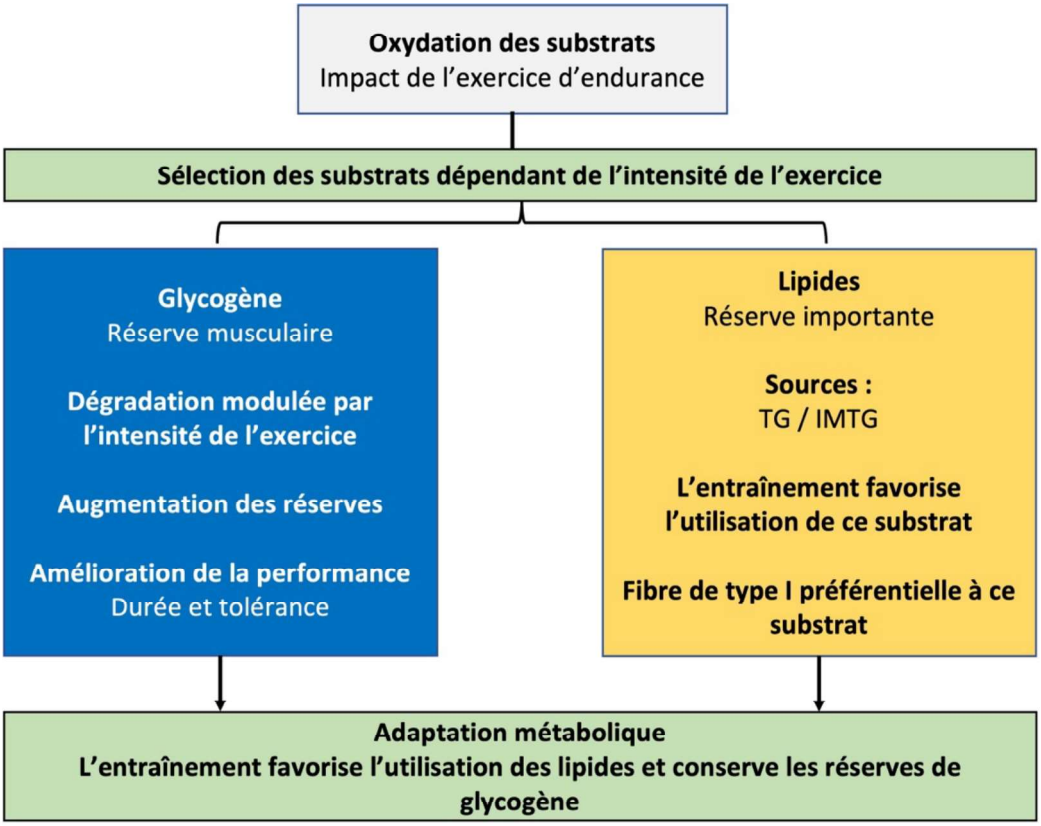


Figure 37 : Impact de l'exercice en endurance sur l'oxydation des substrats et l'adaptation métabolique

L'expression de la glycogène synthase ne semble pas nécessairement augmentée après l'exercice, la restauration des stocks de glycogène semblant principalement induite par une expression accrue de GLUT4, avec une accumulation de glycogène musculaire à des niveaux supérieurs à ceux mesurés avant l'effort, permis par le processus de surcompensation (Nakatani et al., 1997). Il en est de même chez des souris entraînées en endurance où l'expression du gène Gys1 reste inchangée après l'exercice (He et al., 2022).

Malgré ce phénomène de surcompensation avec le glycogène, les glucides seuls ne peuvent assurer l'apport énergétique nécessaire pour soutenir un effort prolongé. C'est pourquoi les lipides représentent un intérêt particulier dans le cadre de l'entraînement en endurance, en raison de leur rôle majeur dans le métabolisme énergétique lors d'efforts de longue durée.

4.2.3.3. Oxydation des lipides et stockage

Contrairement au glycogène, les réserves lipidiques sont beaucoup plus abondantes (> 100 000 kcal chez un individu de 75 kg avec 15 % de masse grasse) et pourraient théoriquement soutenir plusieurs heures d'exercice à une même intensité (Alghannam et al., 2016; Bergström et al., 1967). Les lipides constituant le second substrat énergétique le plus sollicité lors d'exercices

d'endurance (Spriet, 2002), leur utilisation, en réponse à une demande énergétique élevée, représente la principale réserve endogène d'énergie, soit plus de soixante fois la quantité de glycogène stockée chez l'humain.

Lors d'un exercice d'endurance, l'oxydation des acides gras permet de soutenir l'effort tout en retardant l'épuisement du glycogène et l'apparition d'une hypoglycémie (Spriet and Watt, 2003). De plus, divers facteurs tels que l'intensité et la durée de l'exercice (Perry et al., 2008) ainsi que le niveau d'entraînement (van Loon et al., 1999) influencent significativement l'utilisation des lipides comme substrat énergétique.

L'oxydation des lipides implique une séquence d'événements comprenant l'hydrolyse des TG, suivie du transport des acides gras vers les mitochondries des muscles squelettiques pour leur oxydation. Trois sources de TG contribuent à ce processus: le tissu adipeux, les IMTG et les TG circulants (Kiens, 2006). Bien que la quantité d'IMTG soit inférieure à celle des TG du tissu adipeux, les IMTG constituent une source importante de lipides utilisés durant l'exercice d'endurance (Schrauwen-Hinderling et al., 2006; van Loon, 2004) avec une oxydation des IMTG représentant plus de 50 % de la totalité des lipides oxydés (Alghannam et al., 2021). La localisation privilégiée des IMTG à proximité des mitochondries, combinée à une disponibilité deux à trois fois plus élevée de ces lipides dans les fibres musculaires de type I, permet d'expliquer l'abondance et l'utilisation des IMTG pendant l'exercice. Cette organisation favorise une utilisation optimale des IMTG, en particulier chez les individus entraînés, où la capacité à mobiliser et à oxyder les lipides est renforcée, permettant ainsi une source d'énergie durable durant des périodes prolongées d'activité physique (Shaw et al., 2010). Toutefois, au cours d'un exercice d'intensité élevée, il est observé une réduction de l'oxydation des lipides qui ne semble pas être liée à une disponibilité limitée des AGNE plasmatiques ni à une altération du flux sanguin mais à une inhibition de la mobilisation des lipides par le tissu adipeux ou à une perfusion insuffisante de ce dernier (Frayn, 2010). Des contraintes métaboliques mitochondriales pourraient également réduire l'oxydation des acides gras. Ce phénomène est partiellement médié par CPT1. Une intensification de l'exercice réduisant la disponibilité de la carnitine libre intramusculaire (Harris et al., 1987), limite la capacité de la CPT1 à transporter les acides gras vers les mitochondries (Roepstorff et al., 2005; Stephens et al., 2007). Ainsi, la carnitine pourrait constituer un régulateur majeur de l'oxydation lipidique lors de l'augmentation de l'intensité de l'exercice.

Une adaptation métabolique clé à l'entraînement d'endurance est le déplacement de l'utilisation préférentielle des substrats, favorisant l'oxydation lipidique au détriment des glucides afin de préserver les réserves limitées de glycogène endogène (Spriet, 2002). Cette adaptation repose

sur une augmentation du volume mitochondrial, une amélioration du transport des acides gras ainsi que des modifications enzymatiques, notamment une hausse de l'activité de l'hydroacyl-CoA-déshydrogénase. Ces adaptations réduisent les signaux cellulaires tels que l'ADP et l'AMP, diminuant ainsi l'activation des enzymes clés du métabolisme glucidique (Egan and Zierath, 2013).

L'intensité et la durée de l'exercice constituent des déterminants cruciaux de la sélection des substrats énergétiques. Le taux maximal d'oxydation des lipides se produit aux alentours de 65% $\dot{V}O_2max$ (Achten and Jeukendrup, 2003), bien que des variations interindividuelles inexpliquées subsistent, indépendamment du sexe ou du niveau d'entraînement (Venables et al., 2005). En effet, une théorie appelée le concept de Crossover, proposé par Brooks et Mercier en 1994, explique la transition progressive de la source énergétique utilisée lors de l'exercice, passant des lipides vers les glucides à mesure que l'intensité de l'effort augmente (Brooks and Mercier, 1994). À faible intensité, l'organisme privilégie l'oxydation des AGL, tandis qu'à haute intensité, il bascule vers une utilisation accrue des glucides, source plus rapidement mobilisable d'énergie. Ce mécanisme est essentiel pour comprendre l'adaptation métabolique à l'exercice et son efficacité énergétique. Cette distinction est particulièrement importante dans les contextes cliniques, où l'intensité d'exercice doit être ajustée pour optimiser le métabolisme énergétique. Par ailleurs, des études ont montré que des différences sexuelles marquées existent dans le métabolisme énergétique lors de l'effort : les femmes tendent à favoriser l'oxydation lipidique à intensité modérée (environ 60 % de la $\dot{V}O_2max$) par rapport aux hommes, en raison notamment des effets de l'œstrogène sur la mobilisation des lipides et l'amélioration de leur utilisation (Horton et al., 1998). Ces variations soulignent l'importance de prendre en compte le sexe dans la prescription d'exercices pour optimiser les bénéfices métaboliques et la gestion du poids.

L'oxydation des acides gras constitue un mécanisme central permettant de soutenir l'effort en endurance et de préserver les réserves en glycogène. L'entraînement physique joue également un rôle clé en modulant l'expression de divers gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, notamment au niveau hépatique.

4.2.4. Influence de l'entraînement d'endurance sur la synthèse des acides gras hépatique

L'effet d'un programme d'entraînement physique de huit semaines sur l'expression du gène SCD1 dans le foie a montré que l'exercice induisait une diminution de l'expression des niveaux d'ARNm et de protéine de la SCD1 chez des rats soumis à un régime standard (12,5 % de lipides) ou riche en lipides (42,8 % de lipides) **(Figure 38**). Cette réduction n'entraînant pas de diminution des TG hépatiques, ceci suggère que l'exercice agit principalement sur l'amélioration du métabolisme lipidique par SCD1. De plus, l'indice de désaturation SCD1 restant stable indépendamment du régime alimentaire, cela indique une action précoce de l'exercice sur l'expression des gènes et des protéines impliqués dans la gestion des excès lipidiques avant l'apparition de changements physiologiques visibles (Yasari et al., 2010).

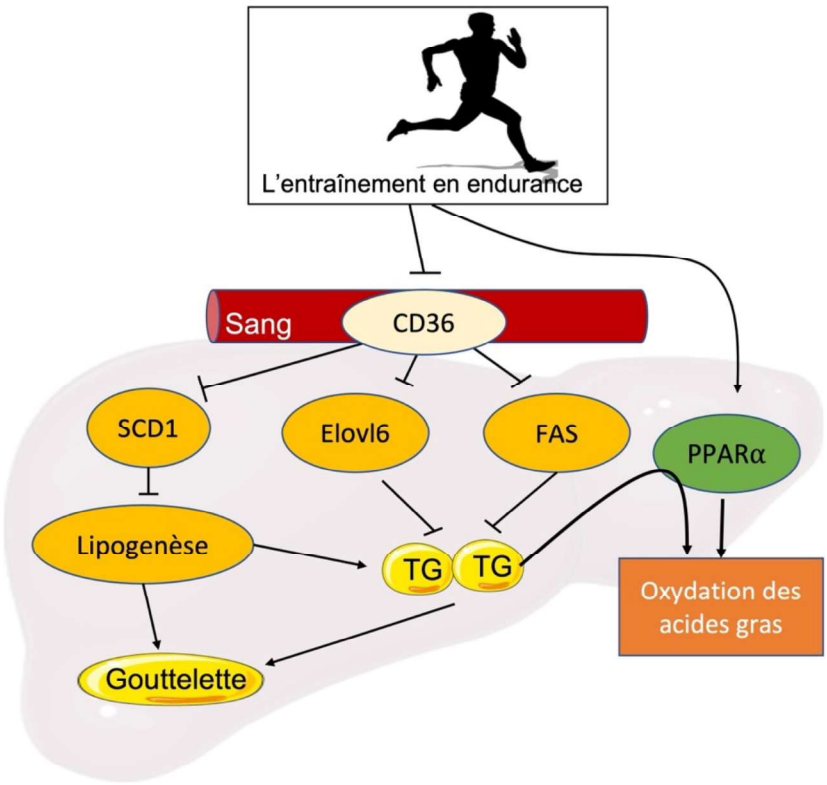


Figure 38 : Effet de l'entraînement en endurance sur la synthèse des acides gras hépatiques. CD36 : cluster of differentiation 36 ; SCD1 : stearoyl-CoA desaturase 1 ; Elovl6 : elongation of very long chain fatty acids protein 6 ; FAS : fatty acid synthase ; TG : triglyceride ; PPARα : peroxisome proliferator-activated receptor alpha

Oh et al. ont examiné les effets d'un programme d'exercices associé à différentes intensités et fréquences chez des individus obèses, sédentaires et d'âge moyen. Après 12 semaines d'entraînement aérobie de haute intensité, une diminution de l'expression de SREBP-1c a été

observée dans certaines cellules du sang périphérique isolées (PBMC) (Oh et al., 2017). Ces cellules, partageant une même origine embryonnaire que les hépatocytes, ces résultats sont considérés comme représentatifs des modifications hépatiques (van der Windt et al., 2018). Par ailleurs, l'entraînement en natation chez des souris a induit une réduction de la captation des acides gras. Cet effet résulte d'une baisse de l'expression génique de CD36, qui est normalement surexprimé par un régime riche en lipides **(Figure 38**). L'étude a suggéré que l'entraînement aérobie inhibe l'accumulation des TG hépatiques (Wu et al., 2015).

Parmi d'autres facteurs influencés par l'entraînement en endurance, l'expression du gène PPARα a été augmentée après huit semaines d'exercice aérobie chez le rat. Cet effet permet une restauration de l'oxydation des acides gras et la réduction de l'accumulation lipidique hépatique induites par un régime lipidique, contribuant ainsi à la restauration des fonctions lipogéniques. L'une des voies résultant de l'activation de PPARα implique la sirtuine 1 ainsi que PGC1α qui sont stimulés par l'entraînement aérobie (Nikroo et al., 2020). Ces marqueurs moléculaires induits par l'exercice semblent jouer un rôle majeur dans la protection des maladies métaboliques hépatiques comme la NAFLD au cours de l'obésité.

4.3. Effets thérapeutiques de l'entraînement en endurance sur l'obésité et les troubles métaboliques associés

Les processus à l'origine de l'obésité et des troubles métaboliques observés sur le foie et le muscle squelettique ont été précédemment décrits. Parmi ces effets, plusieurs études ont montré que l'entraînement en endurance peut contribuer à une diminution modérée du poids corporel, souvent évaluée par une réduction de l'IMC (Figure 39), ainsi qu'à une baisse significative de la masse grasse (Figure 39) (Willis et al., 2012), Ces changements sont souvent accompagnés d'améliorations métaboliques telles qu'une réduction de la glycémie à jeun, des TG et des LDL, particulièrement lors d'exercices aérobies réguliers et suffisamment intenses. Cependant, l'ampleur de ces effets peut varier en fonction de la durée, de l'intensité de l'entraînement, ainsi que des caractéristiques individuelles des participants (Ostman et al., 2017). De plus, la nutrition est un facteur à ne pas négliger pour observer ces effets, la restriction calorique semblant être efficace en association avec l'exercice pour diminuer la masse graisseuse (Johns et al., 2014). Toutefois, le poids corporel est un marqueur d'efficacité de la diminution de l'obésité à ne pas généraliser car suivant le type d'entraînement, la diminution du poids corporel n'est pas observée car la prise de masse musculaire compense la perte de poids (Willis et al., 2012).

L’entraînement en endurance joue également un rôle clé dans l’amélioration des fonctions hépatiques altérées par l’obésité, en particulier dans le cadre de la NAFLD (**Figure 39**). L’activité physique permet de réduire significativement la stéatose hépatique avec une diminution des TG et des esters de cholestérol. Ces effets seraient induits par la stimulation des voies métaboliques impliquées dans l’oxydation des acides gras. Ainsi, une augmentation du métabolisme énergétique hépatique et une réduction du stress oxydatif ont été observées (**Figure 39**) (van den Hoek et al., 2021).

Dans le muscle squelettique, l’exercice d’endurance réduit l’infiltration de graisse et améliore la structure protéique du matériel contractile, contribuant à une meilleure fonction musculaire (**Figure 39**). Ces effets conduisent à une meilleure oxydation des acides gras et à l’amélioration de la sensibilité à l’insuline, restaurant l’utilisation du glucose par les muscles. De plus, l’exercice agit sur l’expression de l’AMPK et PGC1α dans le muscle, contribuant à l’amélioration de l’axe énergétique muscle-foie. En effet, ces adaptations musculaires diminuent la production de médiateurs inflammatoires et augmentent la sécrétion de molécules anti-inflammatoires, appelées myokines, qui ont un effet bénéfique sur le foie. Cette modulation contribue à atténuer le stress métabolique hépatique, diminuant la lipotoxicité et l’inflammation. En retour, le foie réduit la libération de substances pro-inflammatoires et lipidiques dans la circulation sanguine, ce qui limite l’infiltration de graisse et l’inflammation dans le muscle. Ainsi, les échanges entre le muscle et le foie sont positifs, contribuant à la réduction de l’inflammation systémique et à une meilleure régulation énergétique globale (Severinsen and Pedersen, 2020). Cette interaction dynamique souligne l’importance de considérer conjointement ces deux tissus dans le traitement de maladies métaboliques comme la NAFLD (van den Hoek et al., 2021). L’entraînement en endurance agit sur ces cytokines comme d'IL-6 et de TNF-α en réduisant leurs niveaux circulants chez les adultes en surpoids ou obèses (**Figure 39**). Bien que l’IL-6 soit traditionnellement considérée comme une cytokine pro-inflammatoire, l'exercice favorise son rôle anti-inflammatoire à travers les fonctions des cellules musculaires (Gleeson et al., 2011). De plus, la réduction du TNF-α observée après l'entraînement en endurance est associée à une baisse concomitante d'IL-6, ce qui pourrait diminuer le risque de résistance à l’insuline chez les individus obèses (Gonzalo-Encabo et al., 2021).

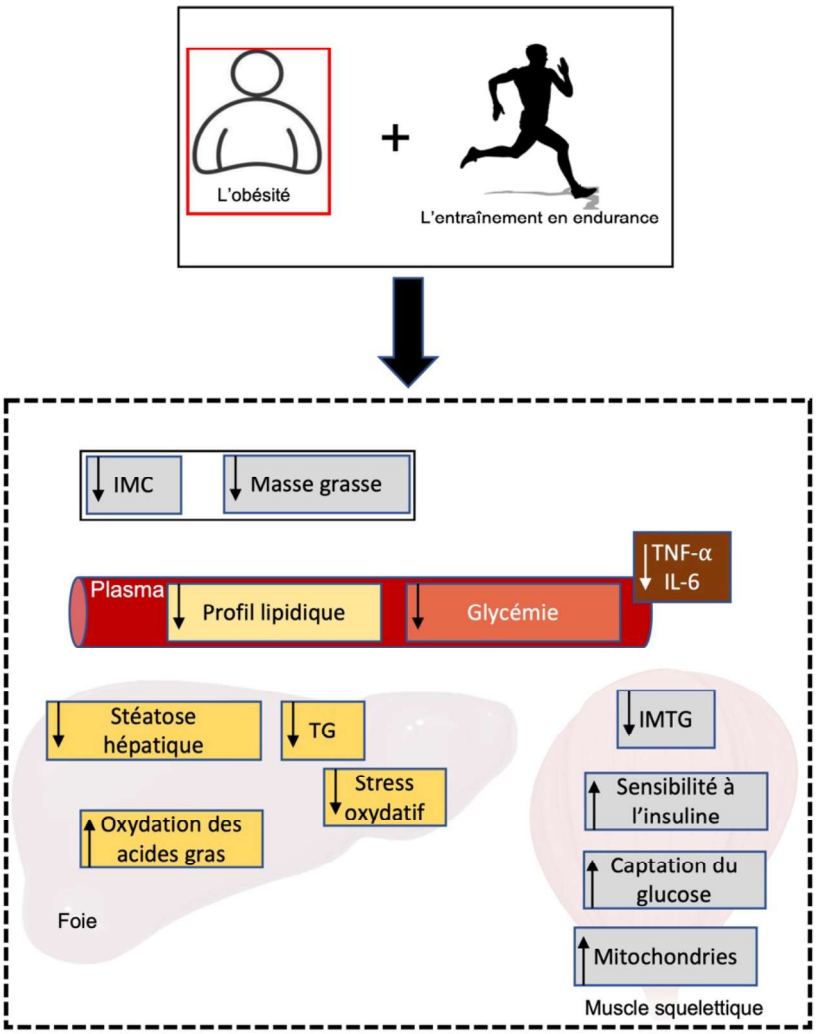


Figure 39 : Effet de l'entraînement en endurance sur l'obésité. IMC : indice de masse corporel ; TG : triglycéride ; IMTG : intramuscular triglycerides ; TNF-α : tumor necrosis factor alpha ; IL-6 : interleukine-6

Sur des modèles murins, l'entraînement en endurance a permis de réduire le poids corporel chez le rat sans affecter l'appétit. Ces effets sont dus à une augmentation du métabolisme énergétique, entraînant une réduction de la masse grasse. Une amélioration de la sensibilité à l'insuline est aussi observée, avec une augmentation de l'expression de GLUT4 dans les tissus tels que le cœur (+67 %), le muscle squelettique (+237 %) ou encore le tissu adipeux (+386 %). Ces augmentations restent plus faibles chez des animaux témoins non atteints de troubles métaboliques comme l'obésité (Caponi et al., 2013).

L'entraînement en endurance montre des effets positifs sur les lipoprotéines plasmatiques (**Figure 39**). Il permet d'augmenter le taux de HDL-cholestérol et de réduire les niveaux de TG et de LDL-cholestérol. Cela améliore le rapport HDL/LDL, ce qui est bénéfique pour la santé cardiovasculaire et la gestion du poids. L'intensité doit être de modérée à élevée, avec un

volume d'exercice suffisant (session de 30 à 60 minutes, 3 à 5 fois par semaine) pour observer ces effets sur les lipoprotéines (Mann et al., 2014).

Pour conclure, le statut d'entraînement est un paramètre fondamental qui impacte la sélection des substrats utilisés lors de l'exercice. Il agit sur l'augmentation de l'oxydation des lipides et améliore la captation du glucose médiée par l'insuline (**Figure 39**). De plus, il existe de grandes variations interindividuelles dans la capacité à oxyder les lipides. La masse maigre, la masse grasse, le sexe, la $\dot{V}O_2max$ et le niveau d'activité physique expliquant seulement 34 % de la variabilité de l'oxydation maximale des lipides (Venables et al., 2005). D'autres facteurs comme l'alimentation pourraient être responsables d'une partie de cette variabilité, avec une réduction de l'oxydation des lipides lors d'un régime riche en glucides et une augmentation avec un régime hyperlipidique (Alghannam et al., 2021). Ces effets bénéfiques de l'entraînement sur le métabolisme énergétique et la régulation des substrats prennent une dimension particulière lorsqu'ils sont replacés dans le contexte du développement de l'organisme, en particulier chez le jeune rat, dont la croissance rapide et la plasticité physiologique modulent fortement les réponses à l'exercice et à la nutrition.

4.4. Développement, croissance et adaptations métaboliques chez le jeune rat

4.4.1. Développement et croissance de l'organisme

Le développement d'un organisme regroupe l'ensemble des processus biologiques qui, à partir d'une cellule initiale, conduisent à la formation d'un être vivant fonctionnel, puis à sa maturation jusqu'à l'âge adulte. Ce processus inclut la croissance, la différenciation cellulaire, l'acquisition de fonctions physiologiques et la coordination des systèmes organiques (Gilbert, 2010). La croissance correspond à une augmentation de la taille et de la masse corporelle par hyperplasie (augmentation du nombre de cellules) et hypertrophie (augmentation de la taille des cellules), tandis que la différenciation assure la spécialisation des cellules en tissus et organes aux fonctions spécifiques. Ce processus est finement régulé par des facteurs génétiques, hormonaux et environnementaux, et implique une communication cellulaire complexe entre les différents tissus (Lawrence, 2017).

Sur le plan physiologique, le développement de l'organisme s'accompagne de modifications métaboliques importantes. Les besoins énergétiques sont particulièrement élevés au cours des phases précoces (première année de vie), afin de soutenir la synthèse de macromolécules, la

formation d'organes et l'établissement des réseaux neuronaux et vasculaires (Devaraj et al., 2023). Les voies de signalisation impliquant l'hormone de croissance, l'IGF-1, l'insuline et les facteurs de transcription liés à mTOR jouent un rôle central dans la croissance des tissus et particulièrement dans la régulation de la masse du muscle squelettique (Velloso, 2008). Chez les mammifères, le développement se poursuit bien après la naissance, avec des étapes distinctes comme la période néonatale, la jeunesse, la puberté et l'âge adulte. Chacune de ces étapes est associée à des caractéristiques physiologiques et métaboliques spécifiques, notamment une plasticité accrue dans les phases précoces, permettant des adaptations rapides aux conditions environnementales mais rendant aussi l'organisme plus vulnérable aux perturbations (Bateson et al., 2004).

4.4.2. Phases de croissance et métabolisme énergétique chez le jeune rat

Dans le cadre d'un modèle animal, son développement débute à la fin du sevrage suivi d'une phase de croissance rapide. Chez cette espèce, la puberté survient vers 5–6 semaines et la maturité sexuelle est atteinte vers 8–10 semaines (Sengupta, 2013). Ce stade est équivalent à la jeune adolescence chez l'humain (Quinn, 2005), période caractérisée par un fort métabolisme anabolique et une plasticité physiologique accrue.

Les rats mâles Wistar montrent des variations importantes liées à l'âge dans leur croissance, leur alimentation et leur métabolisme. Durant les premières semaines, leur prise alimentaire augmente rapidement, puis se stabilise, tandis que les besoins énergétiques relatifs diminuent avec l'âge. La digestibilité des nutriments varie également : la matière sèche, la matière organique, les protéines et les glucides restent relativement stables, mais celle des lipides et des fibres tend à diminuer avec l'âge et selon la composition du régime. En parallèle, le métabolisme azoté évolue : la rétention d'azote (efficacité des protéines) est maximale chez les jeunes rats et décline progressivement avec la maturation, reflétant une diminution de la synthèse protéique et de l'efficacité de rétention. L'ensemble de ces observations montre que l'âge influence à la fois la capacité digestive, la croissance et le métabolisme des rats (Thorbek et al., 1982).

Chez les jeunes animaux, le métabolisme énergétique montre une grande flexibilité face aux régimes riches en lipides. Contrairement aux adultes, le stockage du glycogène musculaire reste stable, grâce à une capacité à adapter le métabolisme des glucides et des lipides pour maintenir la disponibilité du glucose pour le stockage. Les jeunes animaux présentent naturellement des taux élevés de TG plasmatiques, indiquant une oxydation lipidique élevée, indépendamment de

l'alimentation. L'alimentation riche en graisses modifie certaines activités enzymatiques : la pyruvate kinase augmente dans le muscle, tandis que la glycogène phosphorylase diminue, ce qui pourrait refléter une activation du cycle alanine-glucose, favorisant le transfert d'azote vers le foie pour la synthèse d'urée. Cette régulation semble principalement dépendre de la disponibilité des substrats plutôt que des changements enzymatiques eux-mêmes (Brooks and Lampi, 1996).

4.4.3. Effets d'un régime riche en lipides chez le jeune rat

Lors d'une exposition à un régime riche en lipides, une adiposité viscérale marquée (dépôts mésentériques, rétro-péritonéaux et épididymaires) est induite, souvent plus déterminante que la simple prise de poids pour la survenue des complications métaboliques.

Au niveau énergétique, le régime riche en lipides entraîne une hyperglycémie à jeun, associée à une réduction de l'expression et de la translocation de GLUT4 dans le muscle, ainsi qu'à une diminution de la sensibilité à l'insuline, traduisant une perturbation précoce du métabolisme glucidique. Dans le foie, le régime induit une augmentation du poids hépatique et une stéatose microvacuolaire accompagnée d'une élévation des transaminases, suggérant une altération de l'oxydation lipidique et une accumulation ectopique de graisses. Contrairement aux rats adultes, les jeunes rats ne présentent pas d'augmentation des réserves de glycogène hépatique, ce qui souligne une vulnérabilité accrue du foie immature face aux apports excessifs en lipides.

Enfin, sur le plan cardiovasculaire, le régime lipidique s'accompagne d'une élévation précoce de la pression artérielle moyenne et de la fréquence cardiaque, en lien avec une activation du système nerveux sympathique.

Pris ensemble, ces résultats indiquent que le jeune âge constitue une période de sensibilité particulière aux effets délétères d'un régime hyperlipidique, en raison de la plasticité métabolique et des besoins énergétiques accrus liés à la croissance (de Castro et al., 2013). Toutefois, la plasticité métabolique plus importante à ce stade, pourrait permettre une meilleure réversibilité des effets délétères par l'exercice ou un changement de régime comparé à l'adulte (Gollisch et al., 2009).

Ces observations soulignent que le jeune âge constitue une fenêtre de plasticité métabolique et de vulnérabilité aux régimes hyperlipidiques, mais elles suggèrent également que cette plasticité pourrait être exploitée par l'entraînement physique pour améliorer le métabolisme oxydatif et la résistance au stress, ouvrant ainsi la voie à l'étude des adaptations rédox liées à l'exercice avec l'âge.

4.4.4. Réponse à l'entraînement physique et évolution du statut rédox avec l'âge

Chez le jeune rat, l'entraînement physique améliore les performances aérobies même si la marge de progression de la $\dot{V}O_2max$ reste relativement limitée. En effet, les jeunes animaux présentent déjà une capacité cardiorespiratoire élevée, ce qui réduit l'amplitude des gains mesurés en termes absolus de $\dot{V}O_2max$. Néanmoins, malgré cette faible augmentation de la $\dot{V}O_2max$, l'entraînement induit une amélioration notable de l'endurance, traduisant une optimisation des capacités oxydatives musculaires et de l'utilisation des substrats énergétiques. Ainsi, la réponse à l'entraînement chez le jeune rat reflète surtout l'exploitation d'un potentiel physiologique déjà élevé, grâce à une plasticité métabolique et mitochondriale importante, plutôt qu'une compensation d'un déclin fonctionnel comme observé chez les animaux plus âgés (Mazzeo et al., 1984). Il a aussi été montré chez le jeune rat que l'entraînement régulier induit plusieurs adaptations bénéfiques face au stress de l'exercice épuisant. Tout d'abord, il améliore nettement la capacité d'endurance, comme en témoigne l'allongement du temps de nage à l'épuisement (450 min chez les rats entraînés contre 294 min chez les non entraînés). Sur le plan cellulaire, l'entraînement ne modifie pas de manière notable l'intégrité des membranes mitochondriales au repos, mais il contribue à réduire la sensibilité des tissus aux dommages membranaires induits par l'exercice épuisant, notamment au niveau du cœur. En effet, bien que l'exercice intense entraîne une altération de l'intégrité des membranes du réticulum sarco- et endoplasmique, ces dommages apparaissent plus tardivement et de manière atténuée chez les animaux entraînés (Venditti and Meo, 1997). De plus, l'entraînement améliore les mécanismes de défense antioxydante dans les tissus (augmentation de l'activité des enzymes comme la GPx et la glutathion réductase). Cette adaptation limite la production et l'accumulation de produits de peroxydation lipidique (MDA, hydroperoxydes) au cours de l'exercice, ce qui contribue à protéger les membranes cellulaires et à retarder l'apparition des dommages (Venditti and Meo, 1997).

Chez les individus jeunes, les concentrations de GSH sont relativement élevées, permettant une protection efficace contre les radicaux libres et le stress oxydatif. Le de GSSG reste bas, et le ratio GSH/GSSG est donc élevé, reflétant un état rédox favorable et stable. Avec l'âge, on observe une diminution progressive des niveaux de GSH et une augmentation concomitante du GSSG, entraînant une baisse du ratio GSH/GSSG. Cette modification traduit une perte de la capacité antioxydante et un déséquilibre croissant vers un état pro-oxydant. Parallèlement,

l'activité de la glutathion réductase diminue, limitant le recyclage du GSSG en GSH, tandis que l'activité de la GPx augmente, probablement en réponse à une production accrue de peroxydes. Ces ajustements enzymatiques reflètent une tentative de compenser le stress oxydatif, mais entraînent une consommation accrue de GSH.

Enfin, les niveaux de sélénium, cofacteur essentiel des enzymes antioxydantes, diminuent également avec l'âge, réduisant encore l'efficacité du système rédox. Ces changements reflètent une évolution progressive du statut rédox au cours de la vie : chez le jeune, le statut rédox est bien régulé et protégé, tandis qu'avec l'âge, le stress oxydatif augmente et la capacité de défense antioxydante diminue (Erden-İnal et al., 2002). Dans l'ensemble (**Tableau 6**) les données bibliographiques ont montré que le jeune rat se caractérise par une plasticité métabolique et physiologique particulièrement marquée, reflet de son état de croissance et de maturation rapide.

Paramètre	Jeune rat	Références
Croissance et développement	Croissance rapide, forte plasticité métabolique et physiologique	Gilbert, 2010 ; Lawrence, 2017 ; Sengupta, 2013
Métabolisme énergétique	Métabolisme anabolique intense, flexibilité élevée, oxydation lipidique importante	Thorbek et al., 1982 ; Brooks & Lampi, 1996
Statut rédox	Ratio GSH/GSSG élevé, bonnes défenses antioxydantes, forte activité GPx et glutathion réductase	Erden-İnal et al., 2002
Réponse aux régimes	Vulnérabilité aux régimes hyperlipidiques (stéatose, insulinorésistance, altérations hépatiques et cardiovasculaires)	De Castro et al., 2013
Réponse à l'exercice	Endurance aérobie améliorée, adaptation oxydative marquée, meilleure défenses antioxydantes	Mazzeo et al., 1984 ; Venditti & Meo, 1997 ; Gollisch et al., 2009

Tableau 6 : Évolution de la croissance, du métabolisme et du statut rédox chez le jeune rat

Cette période est associée à une efficacité accrue de la rétention azotée (meilleur utilisation des protéines), une grande flexibilité dans l'utilisation des substrats énergétiques et un statut rédox globalement protecteur. Toutefois, cette même plasticité rend l'organisme plus sensible aux perturbations environnementales, en particulier à l'exposition précoce à un régime riche en lipides, qui peut induire des altérations hépatiques, métaboliques et cardiovasculaires. L'entraînement physique, même si son effet sur la $\dot{V}O_2max$ reste limité en raison d'une capacité cardiorespiratoire déjà élevée, améliore significativement l'endurance, optimise les capacités

oxydatives musculaires et renforce les défenses antioxydantes. Ainsi, la période juvénile apparaît comme une fenêtre critique où l'équilibre entre croissance, environnement nutritionnel et activité physique détermine à la fois la trajectoire métabolique de l'organisme et sa vulnérabilité aux désordres ultérieurs. Ainsi, si la nutrition constitue un levier central dans la régulation du poids et du métabolisme, son interaction avec l'entraînement en endurance, particulièrement chez le jeune organisme en phase de croissance, apparaît déterminante pour comprendre les mécanismes d'adaptation et les effets protecteurs face à l'obésité.

5. La nutrition

5.1. Un facteur d'intérêt associé à l'entraînement en endurance pour lutter contre l'obésité

Un déséquilibre prolongé entre les apports énergétiques et les dépenses caloriques, en faveur d'un excès d'apport énergétique, constitue un facteur déterminant dans le développement de l'obésité. Si l'activité physique, en particulier l'entraînement en endurance, est largement reconnue pour ses bienfaits sur la régulation du poids corporel et l'amélioration du métabolisme, elle ne peut, à elle seule, garantir une gestion optimale du poids.

La nutrition joue un rôle central dans ce processus en régulant l'apport énergétique et en conservant l'équilibre avec la dépense (Balani et al., 2019). L'alimentation équilibrée repose sur la consommation variée et proportionnée de nutriments essentiels afin de répondre aux besoins physiologiques de l'organisme. Les apports nutritionnels nécessaires varient en fonction de l'âge, du sexe, du poids corporel et de l'état physiologique de chaque individu. Une alimentation bien ajustée permet de maintenir un poids stable, d'assurer le bon fonctionnement des tissus et de prévenir de nombreuses maladies (Eglseer et al., 2023). A partir de ce constat, il est recommandé que les glucides soient principalement issus de sources comme les céréales complètes, les légumineuses et les fruits (Dewey, 2013). Les protéines, essentielles pour la croissance et la réparation des tissus, doivent provenir de viandes maigres, de poissons, d'œufs et de sources végétales comme les légumineuses et les oléagineux (Wu, 2010). Quant aux lipides, et les acides gras essentiels, comme l'acide linoléique et l'ALA, ils doivent être apportés par l'alimentation, *via* des huiles végétales, des noix et des poissons gras (Patterson et al., 2012). Les vitamines et les minéraux quant à eux sont nécessaires dans les réactions biologiques de l'organisme (Zhang et al., 2018). L'impact d'une alimentation déséquilibrée peut entraîner des carences nutritionnelles ou des excès, conduisant à des maladies chroniques telles que le

diabète, les maladies cardiovasculaires et certains cancers (Micha et al., 2017; Mozaffarian, 2017). Les régimes alimentaires modernes, marqués par une surconsommation de sucres raffinés, de graisses saturées et une faible consommation de fibres et de micronutriments, favorisent ces pathologies (Zagorsky and Smith, 2017). À l'inverse, une alimentation variée et riche en aliments naturels et peu transformés contribue à une meilleure qualité de vie et à une prévention efficace des maladies (Weaver et al., 2014). Une modification du régime alimentaire peut à elle seule limiter l'obésité à travers une perte de poids et de masse grasse. Par exemple, un apport important en protéines induit une réduction de la masse grasse et une meilleure préservation de la masse musculaire, surtout lorsqu'il est combiné à un exercice (Eglseer et al., 2023).

5.2. Les compléments alimentaires issus de microalgues : une stratégie d'intérêt

L'alimentation équilibrée et l'activité physique peuvent tout de même ne pas être suffisantes pour remédier à l'obésité. Des stratégies nutritionnelles supplémentaires ont émergé pour optimiser la diminution du poids corporel et restaurer la régulation métabolique. C'est dans ce contexte que le développement de nouveaux compléments alimentaires vise à prévenir les troubles liés à l'obésité, les maladies cardiovasculaires et à améliorer la performance musculaire (Comhaire and Decleer, 2020; Peeling et al., 2019; Raposo et al., 2021).

Les produits de la mer, en particulier les poissons gras, représentent une source majeure d'AGPI, reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Pal et al., 2018). Ces acides gras présents chez les poissons proviennent des microalgues, un groupe vaste appartenant au phytoplancton, un élément essentiel des écosystèmes aquatiques (Caroppo and Pagliara, 2022). Ces micro-organismes photosynthétiques sont une source prometteuse de nombreuses molécules bioactives telles que les acides gras, les stéroïdes, les caroténoïdes, les polysaccharides et les acides aminés (Sathasivam et al., 2019). Les microalgues contiennent divers composés dont le potentiel bénéfique pour la santé humaine est bien documenté. Leurs propriétés bénéfiques couvrent un large éventail d'applications, notamment en santé cardiovasculaire, en oncologie, ou présentant des activités anti-microbiennes.

Ces propriétés des microalgues ont fait l'objet d'une synthèse bibliographique avec une attention particulière sur les pathologies musculaires (Vignaud et al., 2023, **Annexe** 1). De par leur richesse nutritionnelle, les microalgues ont donc fait l'objet d'études nutritionnelles afin d'évaluer leurs bienfaits sur la santé. Si les effets bénéfiques des microalgues sont en partie

liés à leur richesse en composés bioactifs, un intermédiaire essentiel dans leur action mérite une attention particulière : le microbiote intestinal. Ce dernier, véritable organe métabolique, constitue un relais déterminant capable de moduler et de potentialiser l'impact des microalgues sur la santé, notamment via les axes intestin–foie et intestin–muscle.

5.2.1. Le rôle du microbiote intestinal dans le métabolisme : interactions avec le foie et le muscle

Le microbiote intestinal désigne l'ensemble des micro-organismes (bactéries, archées, virus, champignons et protozoaires) qui colonisent le tube digestif, principalement le côlon. Il constitue un écosystème symbiotique qui entretient des interactions complexes. Chez l'adulte, il est composé de plusieurs dizaines de milliers de milliards de micro-organismes, représentant environ 1 à 2 kg de biomasse, soit un nombre de cellules comparable, voire supérieur, à celui des cellules humaines (Sender et al., 2016). La composition du microbiote varie selon l'âge, l'alimentation, l'environnement et l'état de santé de l'individu (**Figure 40**) (Valdes et al., 2018).

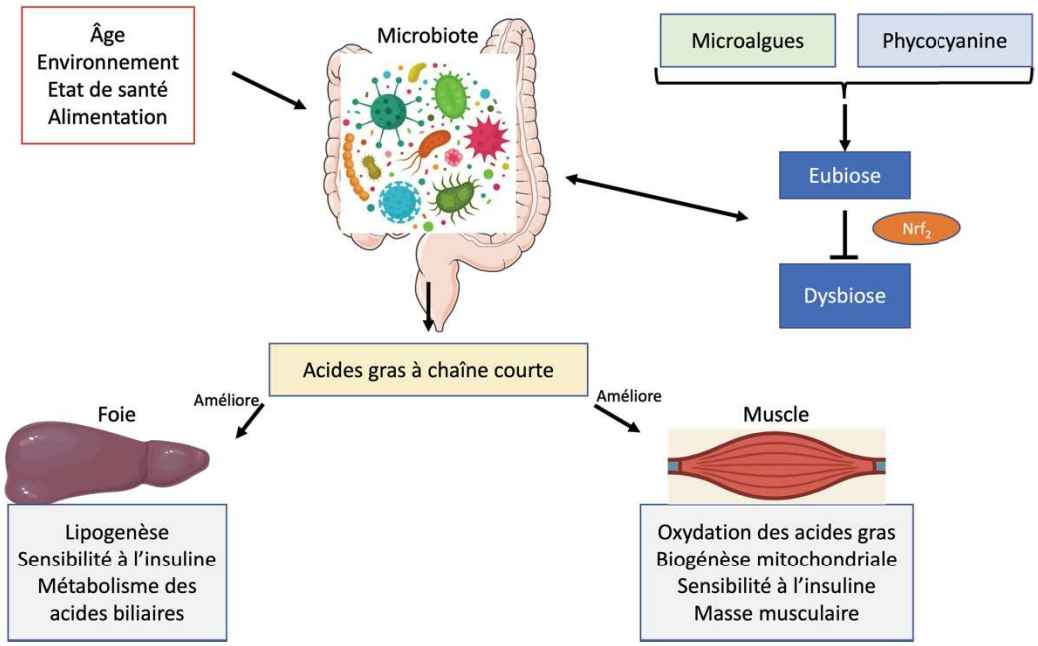


Figure 40 : Le microbiote et ses relations avec le muscle et le foie. Nrf_2 : Nuclear factor erythroid 2–related factor 2

Le microbiote intestinal, considéré comme un organe métabolique à part entière, entretient des interactions étroites avec différents tissus périphériques, notamment le foie et le muscle

squelettique. Ces relations passent principalement par les métabolites microbiens, les acides biliaires et les voies de signalisation inflammatoires.

L'intestin et le foie sont connectés par la veine porte, qui transporte directement les nutriments et les métabolites microbiens vers le foie. Cette relation est souvent désignée sous le terme d'axe intestin–foie (Tripathi et al., 2018). Les acides gras à chaîne courte, produits par la fermentation des fibres alimentaires, influencent la lipogenèse hépatique et la sensibilité à l'insuline (**Figure 40**). De plus, le microbiote module le métabolisme des acides biliaires, qui agissent comme des molécules signal régulant le métabolisme lipidique et glucidique via les récepteurs nucléaires FXR (farnesoid X receptor) et TGR5 (Takeda G protein-coupled receptor 5) (Chiang and Ferrell, 2020; Ridlon et al., 2014). En cas de dysbiose (déséquilibre entre les bonnes et mauvaises bactéries), une augmentation de la perméabilité intestinale peut favoriser le passage de lipopolysaccharides dans la circulation portale. Cette endotoxinémie contribue au développement de l'inflammation hépatique et à des pathologies comme la NAFLD (Le Roy et al., 2013).

Le microbiote influence également le métabolisme musculaire (**Figure 40**), un lien souvent appelé axe intestin–muscle. Les acides gras à chaîne courte, en particulier le butyrate et le propionate, améliorent l'oxydation des acides gras et la biogenèse mitochondriale dans le muscle squelettique (den Besten et al., 2013). Par ailleurs, certaines espèces bactériennes, comme *Akkermansia muciniphila* ou *Faecalibacterium prausnitzii*, sont associées à une meilleure sensibilité à l'insuline et à une utilisation accrue du glucose par les muscles (Everard et al., 2013). Le microbiote joue aussi un rôle dans la régulation de la masse musculaire *via* la modulation de l'inflammation systémique et la production d'acides aminés essentiels ou de précurseurs nécessaires à la synthèse protéique. Des études sur des modèles murins ont montré qu'une transplantation fécale provenant d'animaux entraînés améliorait la performance musculaire et l'endurance, suggérant une interaction directe entre exercice, microbiote et fonction musculaire (Scheiman et al., 2019). Au-delà de leurs effets directs sur le métabolisme hépatique et musculaire, un aspect fondamental mérite d'être considéré : l'influence des microalgues sur le microbiote intestinal. Celui-ci constitue un intermédiaire clé capable de relayer et de potentialiser les effets des composés bioactifs algaux à travers la production de métabolites et la modulation des axes intestin–foie et intestin–muscle.

5.2.2. Les microalgues et la phcocyanine comme modulateurs du microbiote et de l'inflammation

Les microalgues sont une source durable de composés bioactifs capables de remodeler le microbiote intestinal et d'atténuer l'inflammation digestive. Des espèces clés comme la spiruline, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Phaeodactylum tricornutum* et *Nannochloropsis gaditana* sont composées de polysaccharides, peptides, PC, caroténoïdes, lipides (dont EPA) et de fucoxanthine, avec des propriétés prébiotiques, antioxydantes et immunomodulatrices (Eilam et al., 2023; Eze et al., 2023; Matin et al., 2024; Verni et al., 2023). De manière plus large, les extraits de ces microalgues comme la PC, fucoxanthine, polyphénols, polysaccharides ont démontré activer Nrf2, réprimant TNF-α/IL-1β/IL-6 et exerçant des effets antimicrobiens. Ces effets contribus dans des conditions saine à renforcer l'eubiose et protéger de la dysbiose (**Figure 40**) (Matin et al., 2024; Repici et al., 2024).

Les microalgues ont démontré pouvoir soutenir l'activité de probiotiques et leurs métabolites fermentaires (mélanges physiologiques acétate-butyrate-propionate), stimulant les défenses antioxydantes (CAT, GPx) et réduisant de 50 % la peroxydation lipidique induite par TNF-α dans des modèles épithéliaux, tout en consolidant la barrière intestinale (Ferrer et al., 2024; Martelli et al., 2021). Les acides gras à chaînes courtes voient leur efficacité compromise en contexte d'ERO et dysbiose, l'apport simultané d'antioxydants algaux comme la PC ou caroténoïdes et des prébiotiques corrigeant en amont le stress oxydatif a rétabli les conditions nécessaires à une métabolisation efficace des acides gras à chaîne courtes (Shoham et al., 2025). Concernant les effets de la PC, il a été démontré des effets protecteurs majeurs sur le microbiote intestinal en conditions de stress, comme l'irradiation (Lu et al., 2020). En effet, elle restaure la diversité bactérienne, favorise les bactéries bénéfiques productrices d'acides gras à chaîne courte (butyrate, propionate, acétate) et limite la prolifération de bactéries pathogènes. Cette modulation microbiotique entraîne une diminution des cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6) et à une amélioration de la barrière intestinale (Lu et al., 2020). Une autre étude a également démontré qu'après 4 semaines de supplémentation en PC, les souris ont montré une plus grande abondance bactérienne, notamment celles des familles ayant des effets bénéfiques comme *Lactobacillaceae, Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* et *Rikenellaceae* (Xie et al., 2019). Ces bactéries produisent des acides gras à chaîne courte, en particulier le butyrate, qui soutiennent la digestion, l'absorption des nutriments, l'immunité intestinale et la protection contre le stress oxydatif. De plus, la PC a montré augmenter la longueur des villi intestinaux et le nombre de cellules épithéliales et de cellules caliciformes, renforçant ainsi la barrière

intestinale et réduisant la perméabilité aux substances toxiques et aux bactéries pathogènes. Cette amélioration de la barrière et la production accrue de métabolites microbiens bénéfiques contribuent à la santé globale de l'intestin (Lu et al., 2020; Xie et al., 2019). Xie et al a rapporté un effet dose-dépendant, avec un impact plus marqué à faible dose (50 mg/kg) sur la régulation du microbiote et la production de butyrate, suggérant que l'effet n'est pas strictement proportionnel à la quantité administrée.

Pour conclure, les microalgues et particulièrement les molécules bioactives qui les composent comme la PC permettent au microbiote de protéger les acides gras à chaînes courtes (comme le butyrate, propionate et acétate) en condition de dysbiose et atténuent l'inflammation *via* la modulation de NF-κB/TLR4 et l'activation Nrf2, tout en renforçant la barrière intestinale. Ainsi, au-delà de leur rôle dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal et la protection contre le stress oxydatif, les microalgues exercent également des effets métaboliques systémiques. Ces actions, portées par leurs composés bioactifs, se traduisent par une modulation du métabolisme lipidique et glucidique, ouvrant la voie à leur potentiel dans la prévention et la gestion de l'obésité.

5.2.3. Les effets des microalgues sur l'obésité : potentiel des extraits bioactifs dans la gestion du poids corporel

Les microalgues ont démontré leur potentiel anti-obésité favorisant une amélioration du métabolisme (Gómez-Zorita et al., 2019; Tamel Selvan et al., 2023).

Une étude menée par Gil-Cardoso et al. a évalué les effets de la microalgue *Tetraselmis chuii* où la molécule bioactive est la SOD (commercialisée sous le nom de TetraSOD®) chez des rats mâles Sprague Dawley atteints d'un syndrome métabolique induit par un régime riche en lipides, en sucres et pauvre en nutriments essentiels. Les rats ont reçu une supplémentation en *T. chuii* à différentes doses (0,17 ; 1,7 ; 17 mg/kg/jour) pendant huit semaines. Une amélioration du profil glycémique a été observée, avec une réduction significative de la glycémie à jeun à la dose de 17 mg/kg/jour, et une diminution du ratio LDL/VLDL à la dose la plus faible (0,17 mg/kg/jour). Par ailleurs, l'administration de *T. chuii* a montré des effets antioxydants notables, stimulant l'activité hépatique de la GPx et augmentant les niveaux de GSH. De plus, des effets anti-inflammatoires ont été démontrés, ce qui pourrait être bénéfique pour lutter contre l'obésité. Cependant, les résultats n'ont pas montré de réduction significative du poids corporel, de l'indice d'adiposité, des TG ni de l'insulinorésistance (Gil-Cardoso et al., 2022). Outre les effets antioxydants de la microalgue grâce à sa composition en SOD (30 000 U/g de matière

sèche), d'autres molécules pourraient avoir eu des effets sur l'obésité comme les protéines, les glucides et les lipides présents dans *T. chuii* (Khatoon et al., 2018).

Des études menées par Mayer et al. ont évalué les effets de trois microalgues, *Diacronema lutheri, Tisochrysis lutea* et *Phaeodactylum tricornutum* chez des rats Wistar adultes soumis à un régime riche en lipides (60 % de l'apport énergétique) et en fructose (10 % dans l'eau de boisson). Dans chacun des cas, les animaux ont été supplémentés à raison de 12 % du poids corporel pendant huit semaines. Ces travaux ont mis en évidence des effets métaboliques bénéfiques, attribués à la richesse en composés bioactifs de ces microalgues, notamment les AGPI oméga-3, la fucoxanthine et le fucostérol. Globalement, la supplémentation a entraîné une amélioration du métabolisme lipidique, marquée par une réduction des TG plasmatiques, une augmentation du cholestérol HDL et une diminution du cholestérol total et du LDL. Une réduction du poids corporel et de la masse graisseuse notamment abdominale et épididymaire étant observée, malgré un apport énergétique similaire, ceci témoigne d'une modulation favorable du métabolisme énergétique. Au niveau hépatique, les trois microalgues ont permis de réduire les concentrations de TG et de cholestérol total, suggérant une amélioration de la NAFLD. Sur le plan inflammatoire, une diminution des cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-α et l'IL-6, a été constatée, renforçant l'hypothèse d'un effet anti-inflammatoire systémique (Mayer et al., 2022, 2021, 2019).

La supplémentation en *Nannochloropsis oceanica* chez des rats Wistar rendus obèses par un régime riche en lipides et glucides (39.5 % de lait, 20 % de suif de bœuf, 17.5 % de fructose dans le régime et 25 % de fructose dans l'eau de boisson) a révélé une réduction de la taille des vacuoles graisseuses dans le foie, une meilleur gestion du poids et une diminution des troubles métaboliques associés au régime glucido-lipidique (du Preez et al., 2021). Cette microalgue est une source d'AGPI comme l'EPA, mais possède également des pigments antioxydants comme le β-carotène, pouvant expliquer une partie des résultats obtenus.

Ces microalgues ont donc montré des effets prometteurs contre l'obésité, notamment en réduisant l'accumulation de graisses corporelles et en améliorant les profils lipidiques ainsi que l'insulinorésistance.

Parmi d'autres espèces pouvant être qualifiées de « microalgues », la spiruline (*Arthrospira platensis*) se distingue comme une source importante de nutriments comme des protéines et des pigments dont particulièrement de la PC, ayant été largement étudiée à travers divers essais cliniques et précliniques. Plusieurs bénéfices ont été obtenus dans la gestion du poids corporel et la réduction des comorbidités liées à l'obésité. Plus particulièrement chez l'homme, la consommation de spiruline a montré une diminution notable de l'IMC, du tour de taille, du

cholestérol total, du cholestérol LDL, du glucose, de l'insuline et une amélioration du profil antioxydant, comparativement à un groupe placebo (Hernández-Lepe et al., 2019). Dans cette étude, il a aussi été observé une diminution significative du cholestérol total et des TG, ainsi qu'une augmentation du HDL-cholestérol chez les sujets dyslipidémiques après supplémentation en spiruline.

L'impact de la spiruline sur la résistance à l'insuline a également été étudié. Il a été observé qu'une supplémentation en un lyophilysat de spiruline chez des rats nourris avec un régime riche en lipides (60 % de l'énergie apportée) réduit les niveaux de glucose et d'insuline, améliorant ainsi la résistance à l'insuline. Ces résultats suggèrent donc que la spiruline pourrait avoir un effet bénéfique dans la gestion de la résistance à l'insuline associée à l'obésité (Heo and Choung, 2018).

Finalement les microalgues montrent un potentiel important contre l'obésité, en réduisant l'accumulation de graisses corporelles, en améliorant les profils lipidiques et en modifiant la résistance à l'insuline.

Ces microalgues constituent donc une source prometteuse pour la fabrication d'extraits concentrés en composés bioactifs destinés à la création de compléments alimentaires, pouvant ainsi susciter un intérêt croissant chez les sportifs, en quête de nutriments de qualité pour optimiser leurs performances physiques.

5.2.4. Les compléments alimentaires issus de microalgues pour améliorer la performance d'endurance

Au cours de l'exercice physique, la production d'ERO augmente de manière transitoire, générant un stress oxydant modéré. Loin d'être uniquement délétère, cette réponse constitue un signal adaptatif clé, impliqué dans la stimulation de la biogenèse mitochondriale, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et le renforcement des systèmes antioxydants endogènes. En revanche, l'activité physique intense ou le surentraînement peut générer un stress oxydatif important, provoquant des perturbations métaboliques susceptibles de nuire à la régularité des entraînements (Finaud et al., 2006). Dans ce contexte, la supplémentation d'antioxydant pourrait aider au maintien de l'homéostasie redox. Toutefois, leur supplémentation à fortes doses pourrait compromettre ces adaptations bénéfiques. En effet, plusieurs études ont mis en évidence qu'un apport excessif en antioxydants exogènes peut inhiber les réponses physiologiques induites par l'exercice (Braakhuis and Hopkins, 2015; Merry and Ristow, 2016). Cela conduit à envisager avec prudence l'utilisation de suppléments antioxydants dans

le cadre de l'entraînement, notamment lorsque l'objectif est de maximiser les adaptations physiologiques induites par l'exercice. Toutefois, de de nombreux athlètes, qu'ils soient professionnels ou amateurs, consomment des compléments alimentaires composés de molécules bioactives d'origine naturelle afin de pallier ce stress oxydatif. Ainsi, certains compléments alimentaires sont utilisés pour optimiser les performances physiques, accélérer la récupération et permettre un enchaînement plus efficace des séances lors de phases d'entraînement intensif (Peeling et al., 2019). Les antioxydants peuvent être utilisés dans cette optique, bien que leur efficacité dépende largement du contexte d'utilisation, du dosage et des caractéristiques individuelles de l'athlète**.** (Ranchordas et al., 2017).

Parmi les microalgues étudiées, la supplémentation en *Galdieria sulphuraria* (*G. sulphuraria*) a montré un intérêt face aux dommages oxydatifs induits par l'exercice, notamment dans des disciplines d'endurance comme la natation. Grâce à sa richesse en antioxydants tels que la PC et la vitamine E, *G. sulphuraria* a démontré un potentiel notable pour protéger les tissus contre le stress oxydatif lié à l'exercice aigu (Carfagna et al., 2015). L'ajout de cette microalgue dans l'alimentation de rats a permis une réduction significative de la peroxydation des lipides et des protéines, tant au repos qu'après l'effort, au niveau des muscles, du cœur et du foie. Ces effets seraient en partie dus à sa capacité à maintenir des niveaux adéquats de GSH et à réduire les taux de MDA. Des effets similaires ont été observés avec d'autres algues comme *Dunaliella salina* et *Chlorella vulgaris*, qui réduisent aussi les niveaux de MDA dans des contextes pathologiques (Bansal and Jaswal, 2009; Son et al., 2009).

Concernant la spiruline, des effets bénéfiques ont été montrés, notamment concernant l'amélioration de la performance aérobie, la réduction du stress oxydatif, et la prévention des dommages musculaires induits par l'exercice. Après trois semaines de supplémentation en spiruline (7,5 g/j), des sujets non entraînés avaient significativement amélioré leur temps jusqu'à l'épuisement lors du test de Bruce (de 713 à 765 secondes) (Lu et al., 2006). De même, chez d'autres sujets modérément entraînés, une augmentation du temps de survenue de la fatigue au cours d'un test de course submaximal (VMA) a été observée après quatre semaines de supplémentation en spiruline (6 g/j) : 2,70 minutes pour le groupe spiruline contre 2,05 minutes pour le groupe placebo (Kalafati et al., 2010). Le suivi de la consommation en O_2 étant important dans les exercices physiques, celle-ci a fait l'objet d'études lors de la prise alimentaire de spiruline chez des sportifs. Après une semaine de supplémentation (6 g/j), une diminution de la consommation d'oxygène à intensité modérée et une augmentation de la VO_2max à l'épuisement (de 34,1 à 37,4 ml/min/kg) ont été observées, bien que le temps d'épuisement ne différait pas significativement du groupe placebo (Gurney and Spendiff, 2020). Toutefois, ces

effets semblent moins marqués chez les athlètes hautement entraînés. Gurney et al. n'ont pas observé de différence sur la consommation d'oxygène pendant un test submaximal (Gurney et al., 2022) et Chaouachi et al. n'ont constaté aucun effet significatif sur la performance aérobie après sept semaines de supplémentation (5,7 g/j) chez des joueurs de rugby d'élite (Chaouachi et al., 2021). Ces résultats suggèrent que la spiruline pourrait être plus bénéfique chez les sportifs modérément entraînés, dont le potentiel d'amélioration est plus grand. Ces effets pourraient être attribués en partie à la capacité antioxydante de la spiruline. En effet, l'endurance est associée à une production accrue de radicaux libres, et plusieurs études ont évalué la capacité de la spiruline à atténuer ce stress oxydatif. Lu et al. ont observé une réduction significative des niveaux de MDA, ainsi qu'une augmentation des enzymes antioxydantes SOD et GPX après exercice (Lu et al., 2006). Kalafati et al. ont également rapporté une hausse du GSH et une diminution des TBARS (principalement du MDA, un marqueur du stress oxydant) après effort (Kalafati et al., 2010). Gauze-Gnagne et al. ont confirmé ces résultats après un marathon, avec une réduction des TBARS chez les participants ayant pris 5,4 g/j de spiruline pendant deux semaines (Gauze-Gnagne C et al., 2015).

L'ensemble de ces effets contribue à réduire l'inflammation et faciliter la récupération musculaire (Chaouachi et al., 2024). Cependant, il est essentiel de réguler ce type de supplémentation antioxydante, car une réduction excessive des molécules pro-oxydantes peut inhiber les adaptations musculaires induites par l'entraînement (Arc-Chagnaud et al., 2020; Merry and Ristow, 2016). En effet, des marqueurs moléculaires tels que PGC1α et P38 MAPK sont sensibles aux ERO générées durant l'exercice aérobie. Si ces ERO sont neutralisées totalement par une supplémentation antioxydante, leur rôle de signalisation, essentiel à l'adaptation musculaire, peut être compromis.

À la lumière des études recensées ici, il apparaît clairement que les espèces de microalgues présentent un potentiel intéressant dans la lutte contre l'obésité et dans l'optimisation des performances d'endurance, notamment grâce à leur richesse en composés bioactifs aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et métaboliques. Parmi ces espèces, la spiruline se distingue particulièrement par l'abondance des recherches à son sujet, la diversité des effets bénéfiques observés, ainsi que son accessibilité en tant que complément alimentaire largement commercialisé.

De ce fait, la suite de ce travail se concentrera exclusivement sur la spiruline, en explorant plus en détail sa composition, son efficacité et ses mécanismes d'action tant dans la gestion de

l'obésité que dans l'amélioration des performances physiques et de la récupération chez les athlètes.

5.3. La cyanobactérie : Arthrospira platensis

5.3.1. Présentation de la spiruline

La recherche de nouvelles sources nutritionnelles a mis en lumière la spiruline (**Figure 41 A et B**), une cyanobactérie riche en macronutriments et micronutriments. Sa composition peut varier en fonction de l'espèce, de la source, des conditions de culture, du moment de la récolte et de la méthode d'extraction (Babadzhanov et al., 2004). Cependant, sa composition générale se résume comme suit : 50–70 % de protéines, 15–25 % de glucides, 6–13 % de lipides, 4–6 % d'acides nucléiques et 2–5 % de minéraux et vitamines (Hoseini et al., 2013; Sotiroudis and Sotiroudis, 2013). La spiruline est l'une des espèces les plus étudiées en nutrition en raison de sa richesse nutritionnelle, de ses effets bénéfiques et de son absence de toxicité (Chamorro et al., 1996).



Figure 41 : Vues en microscopie photonique de la spiruline (Sinetova et al., 2024)

Une méta-analyse récente a étudié des supplémentations en spiruline allant de 0,5 à 10 g par jour et a conclu qu'une dose quotidienne de 1 à 2 g était suffisante pour observer des effets bénéfiques, bien que la durée de la supplémentation (généralement 6 à 12 semaines) influence également l'efficacité (Zarezadeh et al., 2021). Les données bibliographiques disponibles indiquent une bonne tolérance de la spiruline chez l'adulte sain, avec des doses comprises entre 1 et 10 g/jour selon les études cliniques. Les travaux de Mazokopakis et al., ainsi que de Karkos et al., suggèrent une innocuité notable, bien que certains effets indésirables mineurs, tels que

des troubles digestifs ou réactions allergiques, aient été rapportés (Karkos et al., 2011; Mazokopakis et al., 2014).

5.3.2. La spiruline : une source de protéines et de phycocyanines avec des propriétés industrielles et thérapeutiques d'intérêt

La spiruline contient un taux (environ 60 %) remarquablement élevé de protéines comparé aux graines de légumineuses, telles que les haricots (22 %), les pois (22 %) et même le soja (38 %) (Bensehaila et al., 2015). La spiruline ne possède pas de paroi cellulaire en cellulose, ce qui facilite sa digestibilité (83–90 %) (Hoseini et al., 2013). De plus, la présence d'acides aminés essentiels comme la leucine, la valine et l'isoleucine permet un apport protéique complet et comparable à celui d'origine animale.

La variété d'acides aminés de la spiruline est suffisante et équivalente à la viande, les œufs ou le lait, avec une qualité supérieure par rapport aux protéines végétales (Ahsan et al., 2008). En plus des protéines conventionnelles, la spiruline contient des phycobiliprotéines, des protéines majeures avec des effets d'intérêt sur la santé (Bensehaila et al., 2015). Les phycobiliprotéines de microalgues sont classées en trois groupes : la phycoérythrine, l'allophycocyanine et la phycocyanine (Lupatini et al., 2017). Ces protéines jouent un rôle essentiel dans la capture de l'énergie lumineuse lors de la photosynthèse.

La phycocyanine comprend plusieurs formes, notamment la cyano-phycocyanine (PC), présente chez les cyanobactéries comme *Arthrospira platensis* (spiruline) et la R-phycocyanine, retrouvée chez certaines algues rouges. La PC, en particulier, est un pigment bleu hydrosoluble, non toxique et biologiquement actif. Sur le plan structural, la PC est constituée de deux sous-unités polypeptidiques, une chaîne α (10–19 kDa) et une chaîne β (14–21 kDa), formant ensemble un monomère stable. Sa structure (**Figure 42),** peut varier selon l'espèce productrice, influençant notamment sa composition en acides aminés, ses propriétés de stabilité (en fonction du pH, de la température et de la salinité), ses spectres d'absorption ainsi que sa localisation intracellulaire (thylakoïdes ou cytoplasme) (Campos et al., 2024).

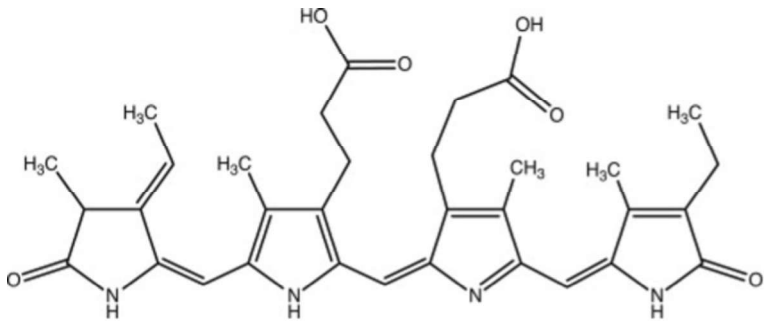


Figure 42 : Structure chimique de la phycocyanine (Fernández-Rojas et al., 2014)

Parmi les différentes microalgues productrices de PC, la spiruline constitue la source la plus abondante, avec une teneur représentant 14 à 25 % de sa matière sèche (Campos et al., 2024; Fernandes et al., 2023). La PC est largement utilisée dans l'industrie alimentaire et cosmétique comme colorant naturel en raison de sa nature non toxique et de son efficacité à produire des couleurs vives et durables, notamment un bleu intense qui est recherché dans les produits alimentaires et cosmétiques. Son utilisation dans les produits alimentaires est particulièrement populaire dans les boissons, les confiseries et les produits de boulangerie (De Morais et al., 2018). Elle suscite aussi un intérêt croissant en recherche biomédicale en raison de sa forte activité antioxydante. Elle a été largement étudiée pour ses effets thérapeutiques potentiels dans diverses pathologies telles que les maladies inflammatoires, le cancer, les affections cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs (Fernandes et al., 2023; Wu et al., 2016).
Ainsi, la PC représente bien plus qu'un simple pigment naturel. Grâce à ses multiples applications industrielles et à ses propriétés bioactives, elle devient un composé clé dans les domaines de la nutrition, de la médecine, et de la cosmétique.

5.4. Effet de la phycocyanine sur l'obésité et les adaptations à l'entraînement aérobie

Après ingestion orale, la PC est partiellement digérée dans le tube digestif. Lors de cette digestion, la phycocyanobiline, un chromophore structurellement similaire à la bilirubine, est libéré sous forme de peptide- phycocyanobiline résistant à l'action des protéases (Terry et al., 1993). Ensuite, la phycocyanobiline est absorbée par les cellules intestinales et transportée vers le foie, où elle est réduite par la biliverdine réductase en phycocyanorubine, une molécule aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Figure 43**) (Liu et al., 2022).

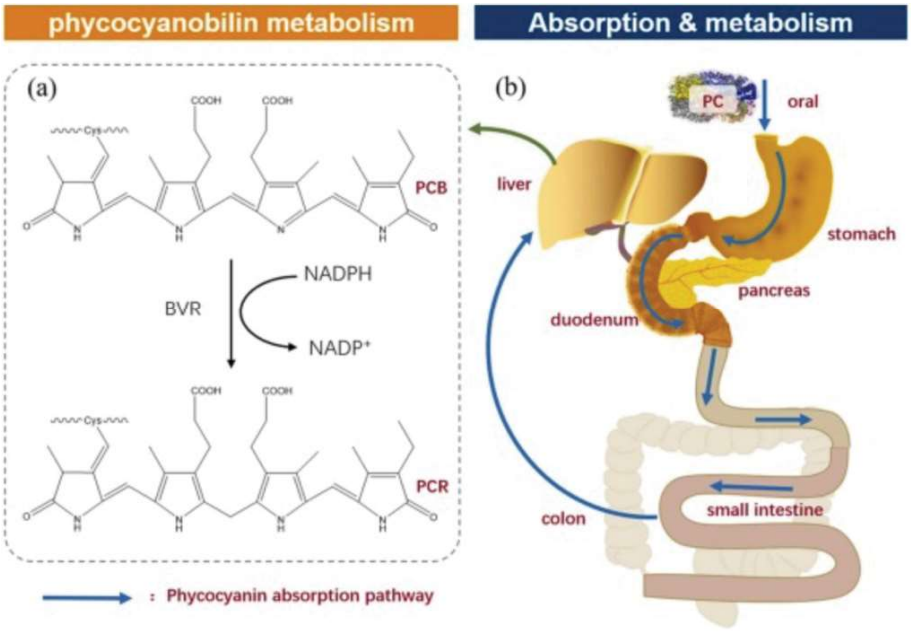


Figure 43 :Voie d'absorption métabolique de la phycocyanine (Liu et al., 2022). (a) : métabolisme de la phycocyanobiline dans le foie ; (b) : processus d'absorption et de métabolisme de la phycocyanine dans l'organisme, PC : phycocyanine, PCB : phycocyanobilin, BVR : biliverdin reductase, PCR : phycocyanorubin.

:

Une fois dans la circulation sanguine, la phycocyanorubine agit au niveau cellulaire en activant la voie Keap1/Nrf$_2$/ARE. En se liant à Keap1, la phycocyanorubine libère Nrf2 qui conduit à l'augmentation de l'expression d'enzymes cytoprotectrices et antioxydantes, telles que l'hème oxygénase-1 (HO-1), la GPx et la NAD(P)H : quinone oxydoréductase 1 (NQO1), réduisant ainsi le stress oxydatif et l'inflammation tissulaire (Gao et al., 2016). De plus, la phycocyanorubine neutralise directement les ERO et peut inhiber l'activité d'enzymes pro-oxydantes telles que la NADPH oxydase, renforçant ainsi sa capacité antioxydante. Elle stimule également l'activité d'autres enzymes endogènes antioxydantes comme la SOD et la CAT. Cette activation réduit le stress oxydatif intracellulaire, protège les mitochondries et limite l'apoptose en régulant les protéines apoptotiques comme une diminution de la caspase 3 (Leung et al., 2013). Les effets antioxydants du produit de la PC en phycocyanobiline ou phycocyanorubine exercent des actions protectrices sur différents organes, comme le foie et participe à la modulation immunitaire (Liu et al., 2020).

Contrairement aux polyphénols, dont l'activité dépend de leur transformation par le microbiote intestinal, la PC agit directement après digestion, assurant une activation rapide et fiable des défenses antioxydantes. Ainsi, l'ingestion orale de PC conduit, après digestion et métabolisation, à une activation cellulaire directe de défenses antioxydantes, une réduction des

radicaux libres, et une protection globale contre le stress oxydatif et l'inflammation. Ces effets ont été étudiés ou font l'objet d'évaluation pour comprendre les mécanismes engendrés et potentiellement protecteur dans un contexte d'obésité et d'entraînement d'endurance aérobie.

5.4.1. Effet sur l'obésité

La PC, présente dans la spiruline a montré, chez des modèles cellulaires et animaux, une diminution de la glycémie à jeun, accompagnée d'une augmentation des niveaux d'insuline plasmatique, ce qui suggère que la PC stimule la sécrétion d'insuline et améliore sa sensibilité (Ziyaei et al., 2023). En effet, la voie Akt/PI3K est davantage activée par la PC (200 mg/kg de poids corporel), ce qui pourrait expliquer l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et permettrait de protéger contre l'insulinorésistance (Hao et al., 2022). De plus, la PC stimule la voie AMPK, ce qui conduit à une meilleure captation du glucose et à la régulation de l'équilibre énergétique (glycolyse, lipolyse, inhibition de la lipogenèse). Toutefois, il est important de noter que l'étude de Hao et al a utilisé une dose de PC supra physiologique qui ne peut être transposable à l'humain. Chez des souris nourries avec un régime riche en lipides pendant 16 semaines, la PC (500 mg/kg de poids corporel) normalise les concentrations sériques de leptine par rapport au groupe témoin. Ce résultat est prometteur pour lutter contre l'obésité, car la leptine est généralement élevée dans des conditions obésogènes et devient inefficace, un processus appelé leptino-résistance (Koch et al., 2014). Concernant certains médiateurs cellulaires, la PC réduit les niveaux sériques de résistine, une adipokine pro-inflammatoire associée à la résistance à l'insuline et aux troubles métaboliques liés à l'obésité (Silva-Neto et al., 2023; Singhal et al., 2008; Steppan et al., 2001). La PC (à une concentration supra physiologique) a également permis de limiter l'augmentation de l'expression de la protéine nuclear factor kappa B dans le tissu adipeux rétro-péritonéal induite par un régime riche en lipides (40 % de l'apport énergétique totale). Elle a également réduit les niveaux de TNF-α dans ce même tissu, confirmant ainsi les propriétés anti-inflammatoires de la PC rapportées dans des études antérieures (Silva-Neto et al., 2023). L'ensemble des effets bénéfiques de la PC est résumé dans le **Tableau 7.**

Paramètre	Tissu	Effet de la phycocyanine au cours de régimes riches en lipides
Phosphorylation AMPK / Akt	Foie	Augmentation significative
Leptine	Sérum	Normalisation et diminution de la leptino résistance
Résistine	Sérum	Diminution
NF-κB / TNF-α	Tissu adipeux rétro-péritonéal	Diminution

Tableau 7 : Effets de la phycocyanine sur différents marqueurs biologiques et tissus (Hao et al., 2022) AMPK : AMP-activated protein kinase ; Akt : protein kinase B ; NF-κB : nuclear factor kappa B ; TNF-α : tumor necrosis factor alpha

Chez la souris KKAy, un modèle animal présentant une obésité, une hyperglycémie et une hyperinsulinémie, la PC administrée (100 mg/kg, une dose supra physiologique pour l'humain) pendant 2 et 3 semaines a montré une réduction significative du poids corporel et une diminution de la consommation de nourriture et d'eau (**Tableau 8**). De plus, une diminution des concentrations sériques de glucose et d'insuline a été observée. L'hyperinsulinémie, étant un signe caractéristique de la résistance à l'insuline, ces résultats suggèrent que l'effet antidiabétique de la PC pourrait être lié à sa capacité à restaurer la sensibilité périphérique à l'insuline. En ce qui concerne la gestion de la glycémie, la PC induit une diminution plus rapide de la tolérance au glucose et favorise la synthèse du glycogène tant dans le foie que dans les muscles. Par comparaison avec un médicament utilisé contre le diabète de type 2, la pioglitazone (2 mg/kg), la PC semble plus efficace pour réduire les niveaux de TG et de cholestérol total dans le sérum et le foie des souris KKAy. L'administration de PC a également entraîné une augmentation du niveau d'antioxydants totaux et une diminution du contenu en MDA dans le sérum et le foie des souris. Ainsi, les effets antidiabétiques observés de la PC pourraient être partiellement attribués à ses propriétés antioxydantes et ses effets sur le métabolisme du glucose (Ou et al., 2013; Romay et al., 1998).

Concernant le métabolisme des lipides, une supplémentation en PC permet de réduire l'accumulation de lipides dans les cellules hépatiques L02 ainsi que dans un modèle de NAFLD chez la souris (**Tableau 8**). En effet, le modèle de stéatose cellulaire associé à une concentration élevée de glucose a révélé que la PC diminue l'accumulation de TG et du cholestérol total dans les cellules L02, suggérant un effet protecteur du développement de la stéatose hépatique. D'un point de vue mécanistique, la PC stimule la voie AMPK dans le foie, modulant ainsi l'expression

de facteurs de transcription impliqués dans le métabolisme des lipides, tels que PPARα et SREBP-1c. L'activation de la voie AMPK par la PC pourrait ainsi atténuer l'accumulation de lipides en régulant la transcription des gènes associés à la lipogenèse et à l'oxydation des acides gras (Ma et al., 2020).

Paramètre	Effet	Modèle/Étude
Poids corporel	Réduction significative du poids corporel après traitement à la PC (2 à 3 semaines)	Souris KKAy (Ou et al., 2013)
Consommation de nourriture et d'eau	Diminution de la consommation alimentaire et hydrique	
Glycémie et insuline circulantes	Réduction des concentrations de glucose et d'insuline dans le sérum	
Sensibilité à l'insuline	Restauration de la sensibilité périphérique à l'insuline, suggérant un effet antidiabétique	
Synthèse du glycogène	Augmentation significative de la synthèse du glycogène dans le foie et les muscles	
TG et cholestérol total	Réduction des niveaux de TG et de cholestérol total dans le sérum et le foie	
Antioxydants totaux	Augmentation du niveau d'antioxydants totaux dans le sérum et le foie	
MDA	Réduction du contenu en MDA, indicatif d'une diminution de la peroxydation lipidique	
Accumulation de lipides dans les cellules hépatiques	Réduction de l'accumulation de lipides dans les cellules L02 en conditions de glucose élevé	Modèle NAFLD et cellules L02 (Romay et al., 1998)
TG et cholestérol dans les cellules hépatiques	Diminution des niveaux de TG et cholestérol dans les cellules L02, indiquant un effet positif sur la stéatose hépatique	
Activation de la voie AMPK	Activation de la voie AMPK, régulant l'expression de PPARα et SREBP-1c, impliqués dans le métabolisme des lipides	

Tableau 8 : Effets de la phycocyanine sur le métabolisme, la sensibilité à l'insuline et la stéatose hépatique

5.4.1. Effets sur l'entraînement en endurance

La PC semble favoriser les adaptations à l'exercice physique, en modulant à la fois le stress oxydatif et les voies de signalisations musculaires. Les effets protecteurs de la PC face au stress oxydatif induit par l'exercice ont été mis en évidence dans plusieurs modèles animaux. Chez des rats soumis à un test de nage forcée, il a été montré qu'une supplémentation en PC (200 mg/kg de poids corporel, une dose supra physiologique) permettait de réduire significativement le stress oxydatif musculaire, avec une diminution des niveaux de MDA et une réduction de la libération de CK et de la lactate déshydrogénase (marqueurs utilisés pour les lésions musculaires). Sur le plan métabolique, la PC a permis une amélioration de la signalisation insulinique *via* IRS-1, Akt, et GLUT4, a activé la voie Akt/mTOR impliquée dans la synthèse des protéines, et a diminué les mécanismes de dégradation des protéines musculaires. Ces effets ont été accompagnés par une activation significative du facteur de transcription Nrf2, renforçant ainsi la réponse antioxydante endogène. Ensemble, ces adaptations ont conduit à une amélioration des performances physiques, suggérant un effet anti-fatigue de la PC (Puengpan et al., 2024).

Ces résultats sont en cohérence avec des études précédentes, où les effets d'une supplémentation en PC ont été évalués dans un modèle d'endurance chronique basé sur la course volontaire chez le rat. En condition sédentaire, la PC a induit une augmentation significative de l'activité des principales enzymes antioxydantes dans le plasma (CAT, SOD et GPx) et dans le muscle gastrocnémien (CAT et GSH), sans modification des niveaux de peroxydation lipidique (TBARS). Lorsque la PC a été associée à l'exercice physique, les TBARS sériques ont été réduits et les activités des enzymes antioxydantes sériques ont été augmentées (SOD, GSH et GPx) bien qu'aucun changement n'ait été observé dans le muscle (Dupuis et al., 2018). En relation avec l'étude de Puengpan et al., cette réponse antioxydante est également médiée par l'activation de Nrf2, ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle la PC exerce des effets cytoprotecteurs par une meilleure régulation du statut redox.

Ainsi, ces deux études suggèrent que la PC, en plus de ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, optimise la réponse adaptative à l'exercice (**Figure 44**), aussi bien en situation de stress aigu (exercice intense) que chronique (entraînement d'endurance), améliorant la performance physique et limitant les dommages tissulaires induits par l'exercice de haute intensité.

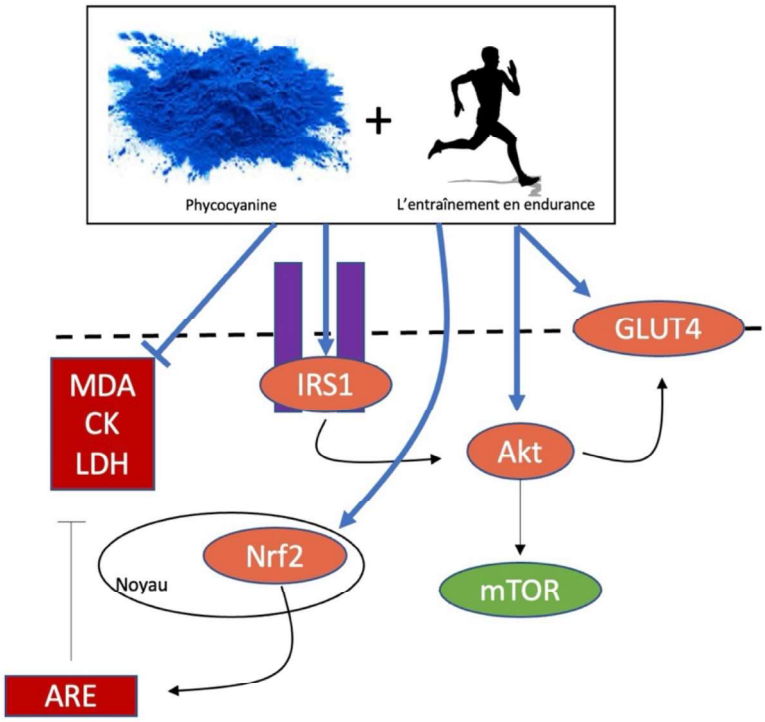


Figure 44 *: Effets de la phycocyanine sur la performance physique et l'adaptation à l'exercice. IRS1 :* insulin receptor substrate 1 ; Akt : protein kinase B ; mTOR : mechanistic target of rapamycin ; GLUT4 : glucose transporter type 4 ; Nrf2 : nuclear factor erythroid 2–related factor 2 ; ARE : antioxidant response element ; MDA : malondialdéhyde ; CK : creatine kinase ; LDH : lactate dehydrogenase

Les précédentes études ont utilisé des doses PC nettement supérieures aux apports physiologiques, rendant leur transposition directe à l'humain difficile. Si l'on considère que la PC représente environ 10 à 20 % de la biomasse sèche de la spiruline, une consommation courante de 1 à 2 g/j de spiruline correspond à un apport estimé de 150 à 400 mg/j de PC chez l'adulte. Une étude toxicologique menée chez la souris a démontré une large marge de sécurité pour la PC (Grover et al., 2021). Aucun signe de toxicité n'a été observé jusqu'à une dose de 2000 mg/kg de poids corporel, que ce soit sur la mortalité, le comportement ou les paramètres cliniques et biochimiques. Les analyses histopathologiques du foie et des reins ont confirmé l'absence de lésions organiques. Les auteurs indiquent que les effets biologiques optimaux dans les modèles animaux apparaissent pour des doses comprises entre 500 et 1000 mg/kg, valeurs bien inférieures à la dose maximale tolérée. Toutefois, ces apports demeurent très élevés et relèvent de doses supra-maximales. Par ailleurs, un rapport de l'ANSES sur les risques liés à la consommation de compléments alimentaires à base de spiruline conclut que la PC n'entraîne pas d'effets indésirables à des doses allant jusqu'à 5 g/kg par voie orale et 70 mg/kg par voie intrapéritonéale chez l'animal (ANSES, 2017).

Concernant les apports humains estimés, l'utilisation d'un extrait de *Galdieria sulphuraria* riche en PC (entre 25 et 35 % de la biomasse de la microalgue) a été de 250 mg par portion alimentaire. En supposant que 10 % des portions quotidiennes contiennent cet ingrédient, l'apport maximal estimé serait de 525 mg/j d'extrait, soit environ 184 mg/j de PC (≈ 3,1 mg/kg/j pour un adulte de 60 kg). Ces estimations se situent largement en dessous des niveaux considérés comme sans risque dans les études toxicologiques animales, renforçant l'hypothèse d'une bonne tolérance aux doses nutritionnelles courantes.

5.5. Le Spirulysat® un complément alimentaire d'intérêt

Des études récentes ont évalué l'efficacité du Spirulysat® en tant que complément alimentaire présentant un intérêt thérapeutique potentiel. Il s'agit d'un extrait aqueux de spiruline, produit par l'entreprise AlgoSource (Guérande, France), dont la molécule bioactive est la PC, bien que des acides aminés et polysaccharides y soient également présents en faibles quantités. Déjà commercialisé et consommé par un large public, le SLE a été testé dans plusieurs contextes cliniques.

Une étude clinique randomisée, en double aveugle et contrôlée par placebo, menée chez des sujets atteints d'un syndrome métabolique a mis en évidence des effets bénéfiques du SLE (Koite et al., 2022). Dans cet essai, les participants ont consommé deux ampoules de SLE par jour, soit l'équivalent de 20 mg de PC, durant 12 semaines. Une diminution significative de la concentration urinaire des isoprostanes (biomarqueurs stables du stress oxydatif dérivés de la peroxydation des acides gras) sur 24 heures a été observée dans le groupe SLE comparé au groupe placebo, suggérant une réduction du stress oxydatif. En parallèle, une baisse significative des TG plasmatiques et une augmentation du cholestérol HDL ont été rapportées, indiquant un effet cardioprotecteur du SLE. En revanche, aucun changement significatif du profil glucidique (glycémie à jeun et insuline) n'a cependant été observé dans cette étude. Ces résultats suggèrent un potentiel effet cardioprotecteur du SLE, principalement via ses propriétés antioxydantes et hypolipémiantes.

Des travaux réalisés sur des modèles animaux ont mis en évidence des effets métaboliques plus marqués avec des doses plus élevées. Des hamsters ont d'abord été soumis pendant deux semaines à un régime riche en lipides (composé d'huile de coco, d'huile de maïs, de cholestérol et de désoxycholate). Ce régime a ensuite été maintenu pendant deux semaines supplémentaires, durant lesquelles les animaux ont reçu une supplémentation en SLE (PC : 11 mg/kg de poids corporel) administré dans l'eau de boisson. Cette dose de PC correspond, sur le plan

physiologique, à une consommation quotidienne d'environ 80 mg/kg de spiruline entière. Dans cette étude, Kasbi-Chadli et al. ont montré une réduction de la glycémie à jeun et une tendance à la diminution de l'expression hépatique de la glucose-6-phosphatase, enzyme clé de la néoglucogenèse. Les auteurs ont également observé une amélioration potentielle de la sensibilité à l'insuline, ainsi qu'une diminution du cholestérol hépatique dans un contexte de régime riche en lipides et en cholestérol. En parallèle, l'expression hépatique du transforming growth factor beta 1, une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans la progression de la stéatose et la fibrogenèse, était significativement réduite dans le groupe supplémenté (Kasbi-Chadli et al., 2021).

Une autre étude a été conduite chez des souris consommant une alimentation riche en fructose et cholestérol et supplémentés en SLE à raison de 60 ou 300 mg/kg/jour de PC dans l'eau de boisson (Coué et al., 2019). Les auteurs ont observé une amélioration significative de la tolérance au glucose, accompagnée d'une réduction des concentrations d'insuline à jeun pour la dose à 300 mg/kg. Cette amélioration du profil métabolique s'est traduite par une baisse de l'expression hépatique de gènes associés à la néoglucogenèse, notamment PEPCK et la glucose-6-phosphatase. En outre, une diminution du stress oxydatif hépatique a été rapportée, en lien avec une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes endogènes telles que SOD et CAT, confirmant l'effet hépatoprotecteur du SLE. Ces résultats soutiennent le potentiel du SLE en tant qu'agent thérapeutique dans le cadre des pathologies métaboliques, notamment celles associées à la stéatose hépatique et à l'insulinorésistance (Coué et al., 2019). L'ensemble des résultats décrits sont synthétisé dans le tableau suivant (**Tableau 9**)

Effet observé	Détail / Mécanisme proposé	Modèle / Référence
↓ Stress oxydatif	↓ isoprostanes urinaires sur 24h	Essai clinique humain (Koite et al., 2022)
↓ Triglycérides plasmatiques	Effet cardioprotecteur	
↑ HDL- cholestérol	Amélioration du profil lipidique	
↔ Glycémie à jeun / insuline	Aucun effet significatif à dose modérée (20 mg/j de PC)	
↓ Glycémie à jeun	Amélioration de la régulation glycémique à dose plus élevée	Hamster (Kasbi-Chadli et al., 2021)
↑ Sensibilité à l'insuline	Effet indirect *via* amélioration de la glycémie	
↓ Cholestérol hépatique	Observé sous régime riche en lipides	
↓ TGF-β1 hépatique	↓ inflammation et fibrose hépatique	
↓ G6Pase hépatique	↓ production hépatique de glucose	Hamster et souris
↓ PEPCK hépatique	↓ néoglucogenèse hépatique	Souris (Coué et al., 2019)
↑ SOD, ↑ CAT	↑ activité des enzymes antioxydantes	
↓ Stress oxydatif hépatique	Corrélé à l'↑ SOD et CAT	
↑ Tolérance au glucose	Amélioration globale du métabolisme glucidique	
↓ Insulinémie à jeun	Meilleure sensibilité à l'insuline	

Tableau 9 : Résumé des effets biologiques de la phycocyanine selon différents modèles. PC : cyano-phycocyanine ; HDL : high-density lipoprotein ; TGF-β1 : transforming growth factor beta 1 ; G6Pase : glucose-6-phosphatase ; PEPCK : phosphoenolpyruvate carboxykinase ; SOD : superoxide dismutase ; CAT : catalase

À l'issue de cette synthèse bibliographique et au regard des nombreuses études recensées, il apparaît pertinent d'évaluer l'efficacité de nouvelles molécules issues des microalgues, dans le but de développer des stratégies contre l'obésité et ses conséquences, ou encore d'améliorer les fonctions musculaires en lien avec l'entraînement et la performance. Parmi ces molécules, le SLE semble être un candidat prometteur, à associer à un programme d'entraînement, non seulement pour lutter contre l'obésité, mais également en raison de ses effets bioactifs potentiellement intéressants pour les athlètes souhaitant optimiser leur performance.

III. Objectifs de la thèse

Les données bibliographiques mettent en évidence l'intérêt croissant des compléments alimentaires, notamment par la présence de molécules bioactives telles que la PC. Ces composés présentent un intérêt à la fois dans le contexte de l'obésité et des pathologies liées à des déséquilibres nutritionnels, mais aussi chez les individus en quête d'optimisation de leurs performances physiques.

Dans cette perspective, parmi ces compléments alimentaires, le Spirulysat® (SLE), riche en PC (1 mg/mL ou 0,1 %), apparaît comme un candidat naturel prometteur. Il pourrait contribuer à atténuer les altérations métaboliques associées à l'obésité tout en favorisant des mécanismes d'adaptation musculaire chez des sujets entraînés.

Au regard des effets bénéfiques rapportés du SLE ainsi que de ceux bien établis de l'exercice physique sur le métabolisme, la combinaison de ces deux interventions pourrait représenter une stratégie pouvant conduire à des effets synergiques d'intérêts. C'est à partir de cette hypothèse que trois objectifs principaux ont été définis dans le cadre de ces travaux de thèse.

Le premier objectif est d'évaluer les effets d'une supplémentation en SLE chez de jeunes rats Wistar (environ 3 semaines d'âge en début d'expérimentation) mâles normopondérés (environ 150 g en début de protocole), nourris avec un régime standard (A04) reconnu comme équilibré et normocalorique, n'induisant pas de troubles métaboliques. Le protocole expérimental a été mené sur 8 semaines, combinant une intervention nutritionnelle et un entraînement physique aérobie. Le SLE a été administré quotidiennement dans l'eau de boisson, à une dose correspondant à 1,1 mg de PC pour 100 g de poids corporel. Parallèlement, les animaux du groupe entraîné ont suivi un programme d'endurance aérobie sur tapis roulant, avec une intensité de course ajustée chaque semaine en fonction de la VMA individuelle, déterminée quatre fois au cours du protocole.

L'hypothèse proposée est que la supplémentation en SLE, riche en PC, composé reconnu pour son activité antioxydante, pourrait potentialiser les adaptations induites par l'entraînement aérobie. Ainsi, l'exercice physique induisant un stress oxydant, essentiel à l'activation des voies d'adaptation musculaire, l'action antioxydante du SLE pourrait favoriser une meilleure homéostasie redox, améliorer les voies métaboliques énergétiques musculaires et potentiellement conduire à une amélioration des performances physiques (VMA).

Les effets sont évalués à travers le suivi de paramètres biochimiques plasmatiques (tolérance au glucose et profil lipidiques), de l'expression génique de marqueurs impliqués dans des voies métaboliques clés du métabolisme énergétique, ainsi que des gènes impliqués dans le stress oxydatif et la fonction mitochondriale, dans deux muscles aux propriétés typologiques

différentes : le soléaire (SOL) avec une dominance de fibres de type I et l'extenseur digitorum longus (EDL) avec une dominance de fibres de type II.

Dans un second temps, les effets de la supplémentation en SLE seront évalués chez de jeunes rats Wistar (environ 3 semaines d'âge en début d'expérimentation) soumis à un régime lipidique combinant un apport élevé en lipides et en fructose à hauteur de 10 % dans l'eau de boisson (HFHS). Ce type de régime, associé à l'âge jeune des rats, peut s'apparenter à une consommation alimentaire d'adolescent humain, caractérisée par une forte teneur en lipides et une consommation régulière de boissons sucrées. Ce type d'alimentation favorise le développement de perturbations métaboliques. Le protocole expérimental s'étend sur 8 semaines, une durée suffisante pour induire des altérations métaboliques stables dans ce modèle (Mayer et al., 2022). Les conditions d'administration du SLE et celles du protocole d'entrainement sont indentiques à celles décrites pour le premier objectif de cette thèse. Ainsi, l'objectif de cette deuxième partie du travail de thèse est d'évaluer les effets isolés et combinés du SLE et de l'entraînement physique sur la régulation du métabolisme énergétique, notamment via l'étude de paramètres biochimiques plasmatiques, de marqueurs d'expression génique musculaire (dans le muscle soléaire) impliqués dans le métabolisme des lipides, des glucides et le stress oxydatif. Cette étude est la suite complémentaire du premier objectif proposé qui se basait sur un régime standard (normocalorique). Le présent objectif vise à étendre et à vérifier les effets observés intéressants du SLE et de l'entraînement aérobie en condition métabolique pathologique. La mise en place de cette deuxième partie repose sur l'hypothèse que la supplémentation en SLE, associée à un exercice aérobie, pourrait atténuer les effets délétères du régime HFHS sur le métabolisme énergétique chez des rats en croissance. Le SLE seul pourrait moduler des gènes métaboliques clés tels que GLUT4, Gys1, CD36 et CPT1A, tout en réduisant l'inflammation et la résistance à l'insuline grâce aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la PC. De plus, l'exercice aérobie pourrait améliorer la dynamique et la biogenèse mitochondriales dans le muscle squelettique, favorisant l'oxydation des acides gras, réduisant la lipotoxicité et augmentant la sensibilité à l'insuline *via* la régulation de facteurs tels que PGC1α. Ainsi, la combinaison de la supplémentation en SLE et de l'exercice aérobie pourrait agir de manière synergique pour contrer plus efficacement les altérations métaboliques induites par le régime HFHS, améliorant le contrôle glycémique, le stockage du glycogène, le métabolisme des lipides et les performances musculaires par rapport à chaque intervention prise isolément.

Enfin, en complément des deux premiers objectifs, le dernier objectif vise à explorer les effets de la combinaison de la supplémentation en SLE et de l'entraînement d'endurance sur la fonction hépatique, organe central dans le métabolisme énergétique et particulièrement sensible aux altérations nutritionnelles. Contrairement au muscle, principalement ciblé par l'exercice, le foie est directement impacté par les excès nutritionnels, notamment dans le cadre d'un régime HFHS. Les conditions expérimentales (modèle animal, nutrition et protocole d'entraînement) sont identiques à celles du deuxième objectif de cette thèse. Cette étude repose sur l'hypothèse qui serait que l'association des deux interventions (SLE et entraînement) pourrait limiter l'accumulation hépatique de TG induite par le régime HFHS. Ce potentiel effet protecteur pourrait impliquer une activation transcriptionnelle du facteur PPARα, un régulateur clé de la β-oxydation hépatique, ainsi qu'à une amélioration globale du métabolisme lipidique hépatique. En parallèle, il est possible qu'une amélioration de la composition en acides gras hépatiques soit identifiée, à travers une régulation de l'expression des enzymes impliquées dans les voies de désaturation (comme la SCD1) et d'élongation (ELOVL).

Finalement, ces trois axes complémentaires visent à approfondir la compréhension des effets du SLE, seul ou en complément d'un entraînement en endurance, sur différents tissus cibles, principalement le muscle squelettique et le foie dans deux contextes nutritionnels distincts : équilibré/normocalorique et hyperlipidique/hypercalorique (HFHS).
L'objectif global de ces travaux est d'évaluer le potentiel du SLE en tant qu'agent nutraceutique pouvant accompagner des athlètes dans l'amélioration de leur performance et également des stratégies préventives ou correctives face aux désordres métaboliques induits par une alimentation déséquilibrée. En explorant les mécanismes d'action du SLE sur la performance physique, le métabolisme énergétique musculaire et hépatique, cette étude contribue au développement de solutions nutritionnelles innovantes, scientifiquement fondées et adaptées aux enjeux actuels de santé publique.

IV. Matériels et méthodes

1. Expérimentation animale

1.1. Animaux

Deux sessions d'expérimentation ont été réalisées sur un total de 64 rats mâles de souche Wistar, âgés de trois semaines, une période équivalente du passage de l'enfance à l'adolescence chez l'humain (Sengupta, 2013) et pesant initialement 120 ± 10 g, obtenus auprès de la société Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). Cette souche est couramment utilisée comme modèle expérimental dans les études nutritionnelles, en particulier celles portant sur l'obésité et les conséquences métaboliques associées (comme le syndrome métabolique) induites par un régime riche en graisses saturées (Wong et al., 2016). Pour chaque session, les animaux ont été hébergés par groupes de quatre par cage dans des conditions environnementales contrôlées : température maintenue à 22 ± 2 °C, humidité relative entre 40 et 60 %, et cycle lumineux de 12 heures d'alternance jour/nuit. Une période d'acclimatation d'une semaine a été réalisée, durant laquelle tous les rats ont reçu un régime standard A04 (SAFE, Augy, France) et un accès libre à l'eau potable.

À l'issue de cette période, les animaux ont été répartis aléatoirement dans différents groupes (n = 8 par groupe), en tenant compte de leur poids corporel. Aucun animal n'a été exclu de l'étude : tous les rats ont suivi l'intégralité du protocole expérimental sans présenter de signes de stress ou de souffrance.

L'ensemble des procédures expérimentales, incluant la justification de l'usage du modèle animal et le respect des principes des 3R (Remplacement, Réduction, Raffinement), a été validé par le comité d'éthique n°006 Pays de la Loire et autorisé par le Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (autorisation APAFIS #40394-202301111324826 v6, délivrée le 23 février 2023).

1.2. Régimes alimentaires et formation des groupes

Les groupes suivants ont été constitués : groupe témoin sédentaire avec régime standard (C : control), groupe sédentaire avec régime standard supplémenté en SLE (*Spirulina* liquid extract - SP : Spirulysat®, brevet n°17 52452, Algosource, Guérande, France), groupe entraîné en endurance avec régime standard (T : training), groupe entraîné en endurance avec régime standard supplémenté en SLE (SPT), groupe sédentaire avec régime riche en lipides (HF : high fat), groupe sédentaire avec régime riche en lipides supplémenté en SLE (HFSP), groupe

entraîné en endurance avec régime riche en lipides (HFT) et groupe entraîné en endurance avec régime riche en lipides supplémenté en SLE (HFSPT). Un résumé du descriptif de ces différents lots est reporté dans le **Tableau 10**.

Groupe	Entraînement en endurance	Régime alimentaire standard	Régime alimentaire riche en lipide	Supplémentation (SLE)
C		X		
SP		X		X
T	X	X		
SPT	X	X		X
HF			X	
HFSP			X	X
HFT	X		X	
HFSPT	X		X	X

Tableau 10 : Répartition des groupes expérimentaux selon l'activité physique, le régime alimentaire et la supplémentation en SLE

Les groupes C, SP, T et SPT, ont reçu un régime standard (A04, SAFE, Augy, France) apportant 72 % de l'énergie totale sous forme de glucides, 19 % sous forme de protéines et 8 % sous forme de lipides, avec un apport énergétique total de 3,35 kcal/g (**Tableau 11**). Les groupes HF, HFSP, HFT et HFSPT ont été soumis à un régime riche en lipides apportant 27 % de l'énergie totale sous forme de glucides, 14 % sous forme de protéines et 59 % sous forme de lipides. L'apport énergétique total est de 5,52 kcal/g. Pour ces groupes, l'eau de boisson a été supplémentée en fructose à 10 %, représentant un apport énergétique supplémentaire de 0,4 kcal/mL. Dans la suite du manuscrit, l'abréviation HFHS sera utilisée pour décrire le régime riche en lipides associé à une eau de boisson supplémentée en fructose. Les rats ont été soumis à ces régimes pendant huit semaines. Les compositions des différents composants nutritionnels (g/kg) et des acides gras (% molaire) dans les différents régimes sont reportées dans les tableaux suivants (**Tableau 11 et Tableau 12**).

Composants nutritionnels	Standard (A04)	Riche en lipides (HF260)
	g/kg	**g/kg**
Protéines	161	198
Glucides	604	372
Lipides	31	359
Cendres	46	42
Fibres	39	1
Humidité	119	28
Total	1000	1000
Énergie totale (kcal/kg)	3,350	5,520
Acides aminés	**g/kg**	**g/kg**
Arginine	9,1	7,9
Cystine	2,5	0,8
Lysine	7,2	17,1
Méthionine	2,8	8,2
Tryptophane	1,9	2,4
Glycine	8,1	3,9
Acides gras	**g/kg**	**g/kg**
Acide palmitique	5,9	110,5
Acide stéarique	0,6	37,1
Acide palmitoléique	0,2	4,1
Acide oléique	4,8	63,9
Acide linoléique	15	16,9
Acide alpha-linolénique	1,2	3,0
Acide eicosapentaénoïque	-	0,1
Acide docosapentaénoïque	-	1,5

Tableau 11 : Composition en nutriments (g/kg) des régimes standard (A04) et riche en lipides (HF260)

Acides gras (% molaire)		
C4:0	-	1,49
C8:0	-	1,20
C10:0	-	3,07
C12:0	-	3,95
C14:0	0,63	13,16
C16:0	15,91	32,87
C16:1n-7	0,73	-
C18:0	2,00	13,32
C18:1n-9	21,44	16,92
C18:2n-6	49,94	5,44
C18:3n-3	4,23	-
C18:4n-3	1,28	-
C20:5n-3	0,66	-
C22:5n-3	0,91	-
C22:6n-3	1,03	-
Autres	1,24	8,58
Total des acides gras saturés	18,54	69,06
Total des acides gras monoinsaturés	22,17	16,92
Total des acides gras polyinsaturés	58,05	5,44
Total des acides gras polyinsaturés de la série n-3 (oméga-3)	8,11	-
Total des acides gras polyinsaturés de la série n-6 (oméga-6)	49,94	5,46
Rapport des acides gras polyinsaturés n-6 sur n-3	0,16	-

Tableau 12 : Composition relative en acides gras (% molaire) dans les régimes standard (A04) et riche en lipides (HF260)

Le SLE est administré dans l'eau de boisson, renouvelé quotidiennement. La concentration en PC a été ajustée de manière à délivrer une dose journalière de 1,1 mg/100 g de poids corporel. Cette dose a été déterminée à partir d'une étude antérieure menée chez le hamster (Kasbi-Chadli et al., 2021). La PC représente généralement entre 15 et 20 % de la biomasse sèche de spiruline, en fonction de la souche, des conditions de culture et des méthodes de séchage (Lee et al., 2016). En supposant une teneur moyenne de 15 %, il faudrait consommer 73,3 mg de spiruline par kg de poids corporel pour atteindre cette dose cible (11 / 0,15 = 73,3). Ainsi, pour un adulte de 70 kg, cela correspond à environ 5 g de spiruline par jour. Cette estimation est cohérente avec les doses utilisées dans la littérature clinique et préclinique, qui varient généralement de

13 à 100 mg/kg/jour chez l'humain, et de 10 à 1500 mg/kg/jour chez l'animal (Deng and Chow, 2010). Toutefois, la relation entre les doses animales vers l'humain en raisonnant sur le poids corporel seul ne peut admettre une transposition fiable. La méthode de conversion la plus couramment utilisée repose sur une normalisation par la surface corporelle (BSA, Body Surface Area). Cette méthode utilise des facteurs de correction inter-espèces appelés Km, qui représentent le rapport entre la masse corporelle et la surface corporelle moyenne pour chaque espèce (Reagan-Shaw et al., 2008). La dose humaine équivalente (DHE) peut alors être estimée à partir de la dose animale selon la formule suivante :

$$DHE\ (mg/kg/J)\ =\ Dose\ animale\ (mg/kg/J)\ \times \left(\frac{K_m\ animal}{K_m\ humain}\right)$$

Ainsi, pour convertir une dose testée chez le rat (Km = 6) vers l'homme (Km = 37), on applique un facteur de conversion de 6/37 ≈ 0,162 mg de PC / kg de poids corporel / Jour. Cette estimation pour un adulte de 70 kg représente environ 124 mg de PC/kg/J, une dose proche de celle du Spirulysat® où le fabricant recommande une à deux ampoules par jour de 10 mg de PC. La composition du SLE est présentée dans le **Tableau 13**. En raison du faible apport calorique (1,67 kcal/100 g de matière sèche de SLE) et de la dose quotidienne administrée, cet apport calorique n'a pas été pris en compte dans l'apport énergétique total.

Composants	Quantité
Phycocyanine	883 mg/L
Glucides	0,4 g/100 g
Acides aminés	**-**
Thréonine	0,009 g/100 g
Aspartate	0,0187 g/100 g
Alanine	0,0168 g/100 g
Arginine	0,0138 g/100 g
Leucine	0,0164 g/100 g
Glutamate	0,022 g/100 g
Ions	**-**
Fer (Fe^{2+})	1,05 mg/kg
Magnésium (Mg^{2+})	18 mg/kg
Calcium (Ca^{2+})	330 mg/kg
Potassium (K^{+})	55 mg/kg
Cuivre (Cu^{2+})	0,2 mg/kg
Valeur calorique	1,67 kcal/100 g

Tableau 13 : Composition nutritionnelle du SLE (Kasbi-Chadli et al., 2021)

1.3. Protocole d'entraînement en endurance et mesure de la vitesse maximale aérobie

Les entraînements ont été réalisés à l'aide d'un tapis de course BIOSEB/Panlab (Vitrolles, France), spécifiquement conçu pour la mise en œuvre de protocoles d'exercice physique chez les rongeurs. Ce dispositif est équipé d'une bande de roulement à vitesse ajustable (jusqu'à 150 cm/s) ainsi que d'une pente modulable de -25° à +25°. Le modèle utilisé dans cette étude comporte cinq voies séparées par des parois en plexiglas (**Figure 45**), adaptées aux rats. Grâce au logiciel SeDaCOM, l'unité de commande permet de réguler la vitesse de la bande, d'administrer des stimuli (stimulations électriques ou air comprimé) et d'enregistrer les données suivantes : temps de course, nombre de stimuli, vitesse et distance parcourue (**Figure 45**).

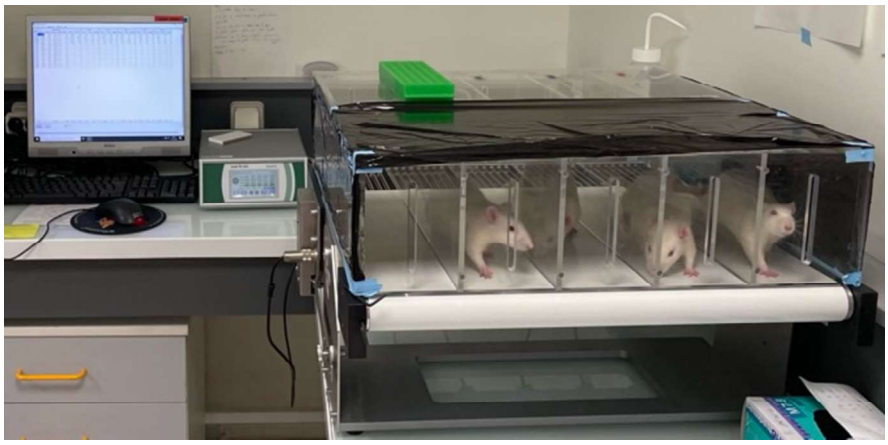


Figure 45 : Configuration du tapis de course

Durant la semaine d'adaptation, afin de sélectionner les animaux ayant des aptitudes à la course, l'ensemble des animaux a été progressivement familiarisé au dispositif grâce à une augmentation contrôlée de la vitesse de la bande, allant de 11 à 21 cm/s pendant 10 minutes (**Tableau 14**). Pendant les huit semaines de suivi nutritionnel, le protocole d'entraînement se compose de trois blocs successifs, dont les modalités hebdomadaires sont détaillées dans le **Tableau 14**. Chaque séance débutait par un échauffement standardisé de 6 minutes, avec une augmentation progressive de la vitesse de 15 à 30 cm/s (Ferreira et al., 2007). Les sessions d'entraînement étaient réalisées cinq jours par semaine, avec deux jours consécutifs de repos, afin de permettre une récupération optimale des tissus sollicités par l'effort physique. Chaque groupe a réalisé un test d'effort visant à déterminer la VMA. Ce test a été effectué à la fin de la semaine d'adaptation, puis répété à la fin de chaque bloc d'entraînement.

Le test de VMA démarrait à une vitesse initiale de 15 cm/s, avec une augmentation alternée de 3 cm/s et 2 cm/s chaque minute, jusqu'à l'épuisement (Cardenia et al., 2017; Fadaei Chafy et al., 2022). Ce dernier a été défini par l'apparition de critères comportementaux visibles indiquant la fatigue, tels qu'une course prolongée à proximité immédiate de la grille de stimulation, une alternance entre périodes de stimulation et reprises de course, un abaissement notable du centre de gravité durant l'effort, ou encore un arrêt partiel ou total sur la zone de stimulation.

	Semaine	Temps de course (min)	Vitesse (cm/sec)	Mesure de la VMA	Sprints
Adaptation	0	10	11 - 16 - 21	X	
Bloc 1	1	25	60 % Moyenne VMA		
	2	30	70 % Moyenne VMA		
	3	30	80% Moyenne VMA	X	
Bloc 2	4	60	60 % Moyenne VMA		30 sec à 70 % de la VMA Moyenne chaque 10 min
	5	60	70 % Moyenne VMA		30 sec à 80 % de la VMA Moyenne chaque 10 min
	6	60	80 % Moyenne VMA	X	30 sec à 90 % de la VMA Moyenne chaque 10 min
Bloc 3	7	60-70	60 % Moyenne VMA		1 min à 80 % de la VMA Moyenne chaque 13 min
	8	60	70 % Moyenne VMA	X	1 min à 90 % de la VMA Moyenne chaque 13 min

Tableau 14 : Planification hebdomadaire du protocole d'entraînement sur tapis roulant chez le rat. VMA : vitesse maximal aérobie

La VMA a été considérée comme un indice de l'intensité de l'exercice, et l'entraînement d'endurance a été réalisé à 60 %, 70 % et 80 % de la VMA (Balasekaran et al., 2023). Ainsi, le premier bloc d'entraînement, d'une durée de trois semaines, a été conçu selon une intensité croissante : 60 %, 70 %, et 80 % de la VMA, durant les première, deuxième et troisième semaines, respectivement (**Tableau 14**). À partir du second bloc, des sprints de courte durée ont été intégrés aux séances dans le but de stimuler davantage l'adaptation mitochondriale et d'améliorer la VMA (Kryściak et al., 2018).

1.4. Test de tolérance au glucose

Le premier jour de la septième semaine du protocole expérimental, un test de tolérance au glucose intrapéritonéal (IPGTT ou GTT) a été réalisé sur l'ensemble des groupes expérimentaux. Ce test a été effectué après une période de jeûne de 12 heures et deux jours consécutifs sans entraînement, afin d'éliminer tout effet aigu potentiel lié à l'exercice physique. La dose de glucose administrée a ensuite été calculée individuellement en fonction du poids corporel de chaque animal. Après injection par voie intrapéritonéale de glucose (1 g/kg), les mesures de glycémie ont été effectuées en recueillant une goutte de sang veineux à l'extrémité de la queue à l'aide de lancettes stériles jetables (Abbott Single Fire). Les glycémies ont été déterminées à l'aide d'un glucomètre (Freestyle Papillon Vision). Les mesures ont été réalisées aux temps 0 (glycémie à jeun), puis 15, 30, 60 et 120 minutes après l'injection de glucose, afin d'évaluer la capacité des animaux à réguler leur glycémie.
À partir des valeurs de glycémie obtenues au cours de ce test, l'aire sous la courbe (AUC) a été calculée afin d'évaluer la réponse glycémique des différents groupes.

1.5. Suivi nutritionnel et prélèvement des échantillons

Le complément alimentaire (SLE) ainsi que les régimes expérimentaux respectifs ont été administrés pendant une durée de huit semaines, débutant après la semaine d'acclimatation. Durant cette période, les consommations des régimes et de l'eau ont été mesurées chaque jour et le poids corporel des animaux a été suivi trois fois par semaine, avant le début des séances d'entraînement. Tous les régimes alimentaires ont été conservés à une température de 4 °C et entièrement renouvelés une fois par semaine. Pour les groupes recevant une supplémentation en SLE, l'eau de boisson a été remplacée quotidiennement et protégée de la lumière, afin de maintenir l'intégrité de la molécule de PC. À l'issue de la dernière séance d'entraînement, une période de récupération de trois jours a été respectée afin d'éliminer tout effet aigu de l'exercice physique (Dong et al., 2014; Mendes et al., 2022; Shanazari et al., 2019).
Les animaux ont ensuite été anesthésiés par injection intrapéritonéale d'un mélange de diazépam (5 mg/mL) et de kétamine (100 mg/mL) dans un rapport volumique 4:3, administré à raison de 0,1 mL/100 g de masse corporelle. Le sang a été prélevé par ponction au niveau de l'aorte abdominale dans des tubes contenant une solution anticoagulante ACD (acide citrique, citrate trisodique, dextrose), composée de 130 mM d'acide citrique, 170 mM de citrate trisodique et 222 mM de dextrose. Le sang a été centrifugé à 1000 × g pendant 10 minutes ; le

plasma a été récupéré, aliquoté, puis conservé à -80 °C. Le foie, les tissus adipeux périrénal et épididymaire, et les muscles SOL et EDL ont été prélevés, pesés puis stockés à -80 °C. Par ailleurs, la longueur tibiale a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse gradué en centimètres. Tous les tissus prélevés ont été normalisés par rapport au poids corporel (g/100 g de poids corporel) et à la longueur tibiale (g/cm de longueur tibiale).

2. Dosages plasmatiques

Les analyses biochimiques ont été réalisées à partir du plasma. Les paramètres mesurés sont la triglycéridémie, la cholestérolémie totale, et les fractions HDL- et non-HDL-cholestérol (calculée), ainsi que la glycémie, l'insulinémie et la concentration plasmatique en IL-6.

2.1. Profil lipidique

Les teneurs plasmatiques ont été mesurées à l'aide des kits de dosage : triglycérides (CAK-1086 Clinisciences), cholestérol total (KA3709 Clinisciences) et cholestérol-HDL (90406 Biolabo).

Triglycérides

Le dosage des TG plasmatiques repose sur la quantification du glycérol libéré à la suite de l'hydrolyse des TG en acides gras libres et glycérol. Le glycérol est ensuite phosphorylé en glycérol-3-phosphate par l'action de la glycérol kinase. Ce composé est oxydé par la glycérol phosphate oxydase, produisant du dihydroxyacétone phosphate et du H_2O_2. Le H_2O_2 formé réagit avec un chromogène (4-chlorophénol) en présence d'une peroxydase, conduisant à la formation d'un chromophore de couleur rose, la quinonéimine. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à 510 nm, est directement proportionnelle à la concentration en TG présents dans l'échantillon.

Cholestérol total

Le dosage du cholestérol total plasmatique repose sur une réaction enzymatique en plusieurs étapes. Les esters de cholestérol sont d'abord hydrolysés en cholestérol libre sous l'action de la cholestérol estérase. Ce cholestérol libre est ensuite oxydé par la cholestérol oxydase, générant une cholestérol-4-ène-3-one et du H_2O_2 en tant que sous-produit. L'H_2O_2 réagit avec un substrat chromogène (4-aminoantipyridine + phénol), en présence d'une peroxydase, produisant un

composé coloré de type quinonéimine. L'intensité de la coloration rose ainsi formée est mesurée par spectrophotométrie à 510 nm et est directement corrélée à la concentration de cholestérol total dans l'échantillon.

HDL-cholestérol

La concentration en HDL-cholestérol a été déterminée à l'aide d'une méthode enzymatique directe en deux étapes. Lors de la première phase, les lipoprotéines non-HDL (LDL, VLDL et chylomicrons) libèrent du cholestérol, qui est oxydé, générant du H_2O_2. Ce dernier est dégradé par une peroxydase et en présence de DSBmt (N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine disodium), empêchant toute interférence avec la détection du HDL-cholestérol.

Dans une seconde phase, l'ajout d'un détergent spécifique permet de solubiliser sélectivement le HDL-cholestérol. Ce dernier ainsi libéré est hydrolysé par la cholestérol estérase, puis oxydé par la cholestérol oxydase. Le H_2O_2 formé dans cette réaction est couplé à un substrat chromogène (4-aminoantipyrine) en présence d'une peroxydase, produisant un chromophore dont l'absorbance est mesurée à 600 nm. L'intensité de cette absorbance est directement proportionnelle à la concentration de HDL-cholestérol dans l'échantillon.

Pour tous les dosages précédents, la concentration a été déterminée à l'aide d'un étalon fourni par le kit, et les résultats ont été exprimés en mmol/L.

Autres paramètres calculés

À partir des mesures biochimiques obtenues précédemment, des indices complémentaires ont été calculés afin d'évaluer le risque cardiovasculaire. Parmi ceux-ci figurent le non-HDL-cholestérol et l'indice athérogène plasmatique (AIP). Le non-HDL-cholestérol, qui regroupe l'ensemble des lipoprotéines athérogènes (VLDL, IDL et LDL), est estimé selon la formule suivante (Carr et al., 2019):

$$non\text{-}HDL\text{-}cholestérol = cholestérol\ \text{total}\ (mmol/L) - HDL\ cholestérol\ (mmol/L)$$

Cet indicateur permet une évaluation du cholestérol potentiellement athérogène, indépendamment de la fraction HDL. De plus, l'AIP indicateur du risque de formation de plaques d'athérome est calculé selon l'équation suivante (Askin and Tanriverdi, 2023) :

$$AIP = log10(\frac{TG}{HDL\ cholestérol})$$

Cet indice repose sur le rapport TG/HDL-cholestérol, reflétant l'équilibre entre lipoprotéines pro- et anti-athérogènes. Une valeur élevée d'AIP est associée à un risque accru de maladies cardiovasculaires.

2.2. Glycémie, insulinémie et interleukine-6 plasmatique

La glycémie à jeun a été mesurée de façon identique à celle du test de tolérance au glucose précédemment décrit. L'insulinémie a été dosée dans le plasma à l'aide d'un kit ELISA (17475383 Fisher), en suivant les instructions d'application fournies. De la même façon, l'IL-6 a été dosé dans le plasma en suivant le protocole du kit ELISA (Ab100772 Abcam). Ces deux dosages ont été effectués à la fin du protocole expérimental sur le plasma recueilli, l'insulinémie n'ayant pas été dosée durant les tests GTT.

Les kits utilisés pour la détermination des concentrations en insuline et IL-6 reposent sur le principe de la technique ELISA. Les puits de la microplaque sont revêtus d'un anticorps spécifique de l'insuline ou de l'IL-6. Les échantillons plasmatiques ont été ajoutés dans les puits, permettant à l'insuline ou IL-6 de se lier à l'anticorps (environ 3 heures d'incubation). Après quatre lavages, un anticorps de détection biotinylé spécifique de l'insuline ou l'IL-6 est ajouté (incubation 1 heure). Ce dernier se lie à l'insuline ou l'IL-6 capturée. Ensuite, quatre lavages ont été effectués et une solution de streptavidine conjuguée à la peroxydase de raifort (HRP) est ajoutée, se liant à la biotine. Après quatre nouveaux lavages, un substrat chromogène est introduit (TMB one-STEP substrate) suivi d'une incubation de 30 minutes. La réaction enzymatique produit une coloration bleue qui devient jaune après l'ajout d'une solution d'arrêt. L'intensité de la couleur, mesurée à 450 nm, est proportionnelle à la concentration d'insuline ou d'IL-6 dans l'échantillon. Les concentrations ont été déterminées à partir de gammes d'étalonnage, elles-mêmes effectuées à partir d'un standard fourni par le kit commercial. Les résultats obtenus ont été exprimés pour l'insuline en µUI/mL et pour l'IL-6 en pg/mL.

3. Étude des lipides hépatiques

3.1. Extraction des lipides totaux

Cette méthode d'extraction a été mise au point par Folch en 1957 et modifiée par Eggers et Schwudke en 2016 (Eggers and Schwudke, 2016). Les lipides totaux (LT) hépatiques ont été extraits à partir de 2 g de tissu hépatique. Vingt mL d'un mélange chloroforme/méthanol (2/1) ont été utilisés pour broyer le tissu à l'aide d'un ultra-turrax (Polytron 2500) programmé à 13 tours par minute. Après filtration, le filtrat contenant les LT a été recueilli dans un ballon en verre. Les lipides extraits ont ensuite été séchés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Heidolph 94200, Thermo Scientific) équipé d'un bain-marie maintenu à 40 °C. L'ajout d'éthanol à 100 % dans le ballon a permis d'éliminer l'eau résiduelle présente dans l'extrait lipidique, facilitant ainsi le séchage des lipides. Par la suite, les LT ont été récupérés dans 2 mL de chloroforme, puis stockés à -20 °C en vue d'analyses ultérieures.

3.2. Dosage des triglycérides et cholestérol total

Les TG et le cholestérol hépatiques ont été quantifiés à partir des LT précédemment extraits. Les dosages ont été réalisés en utilisant les mêmes kits et protocoles que pour les échantillons plasmatiques : triglycérides (CAK-1086, Clinisciences) et cholestérol total (KA3709, Clinisciences). Les résultats ont été exprimés en mg/g de tissu hépatique.

3.3. Séparation des lipides totaux

La séparation des LT a été réalisée dans le but d'extraire la fraction des PL, en raison de leur rôle fondamental dans l'organisation et le fonctionnement des membranes biologiques. La composition en acides gras des PL influence directement la fluidité membranaire, la perméabilité, ainsi que les interactions membranaires avec diverses protéines ou molécules, impactant ainsi des processus cellulaires majeurs tels que le transport, la signalisation et la dynamique membranaire. Un aliquot de l'extrait de LT est déposé en tête d'une cartouche Sep-Pak Silica (Waters, réf. WAT020520). Les lipides neutres sont tout d'abord élués à l'aide de 30 mL de chloroforme. Les PL sont ensuite récupérés par élution avec 40 mL de méthanol, collectés dans un ballon en verre (Kim and Salem, 1990). L'extrait est ensuite évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis séché avec de l'éthanol à 100 %, afin

d'éliminer toute trace résiduelle d'humidité. Enfin, les PL sont solubilisés dans 1 mL de chloroforme et stockés à -20 °C en vue des analyses ultérieures.

3.4. Obtention des esters méthyliques d'acides gras

Les acides gras sont des molécules caractérisées par un poids moléculaire élevé. Leur forte polarité, due à une inégalité dans la répartition des charges positives et négatives, explique leur faible volatilité. Pour permettre leur passage en chromatographie en phase gazeuse (CPG), il a été nécessaire de rendre ces acides gras volatils. Cela implique leur conversion en esters méthyliques d'acides gras (EMAG), des composés plus volatils. La réaction de trans méthylation (**Figure 46**) consiste à transférer un groupement méthyl (-CH_3) sur les acides gras, selon la méthode de Slover et Lanza. Un mL de l'extrait de PL a été évaporé à sec, puis 2 mL de soude méthanolique à 0,5 M ont été ajoutés. Le mélange a été incubé pendant 25 minutes à 90 °C, sous azote. Après cette première étape, 4 mL de trifluorure de bore méthanolique ont été ajoutés. Une seconde incubation de 25 minutes à 90 °C sous azote permet de catalyser la trans estérification des acides gras (Slover and Lanza, 1979).

A la fin de l'incubation, 2 mL d'isooctane et 1 mL de NaCl à 35 % sont ajoutés. Après agitation vigoureuse, le mélange a été centrifugé pendant 2 minutes à 1 000 tr/min. La phase organique supérieure contenant les EMAG a été récupérée, puis séchée en la passant à travers une colonne de sulfate de sodium anhydre. Cette opération a été répétée une fois. Au total, 4 mL d'une solution d'isooctane contenant les EMAG sont obtenus. Les échantillons ont été stockés à -20 °C jusqu'à l'analyse par CPG.

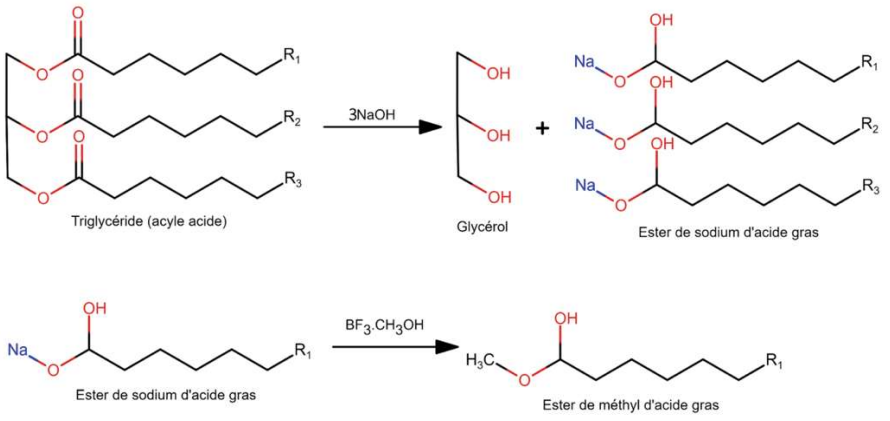


Figure 46 : Représentation de la réaction de méthylation d'un triglycéride en ester de méthyl d'acide gras. R1, R2 et R3 sont des chaînes carbonées de longueur et de saturation variables

3.5. Détermination des profils en acides gras

L'analyse est réalisée avec un chromatographe, TRACE 1300 (Thermo Scientific) équipé d'une colonne capillaire CP-Sil 88 de 25 m de longueur et de 0,25 mm de diamètre. L'azote a été utilisé comme gaz vecteur inerte avec un débit de 1 mL/minute. L'injection a été réalisée à l'aide d'un injecteur automatique AI3000 en mode split avec un volume de 5 µL à 230°C. Le four est d'abord maintenu à 120 °C pendant 4 minutes, puis un gradient de température est appliqué avec un pas de 6 °C/min jusqu'à 220 °C, température maintenue ensuite pendant 5 minutes. Ainsi, les échantillons sont passés à l'état gazeux, puis mélangés avec le gaz vecteur. Ce mélange est ensuite entraîné à travers la colonne chromatographique, où les différents composés sont séparés selon leur interaction avec la phase stationnaire. À la sortie de la colonne, les composés sont détectés par le détecteur à ionisation de flamme, qui permet de détecter, d'identifier et de déterminer la teneur relative de chaque EMAG en fonction de son temps de rétention et de l'intensité du signal produit. L'identification des acides gras est basée sur la comparaison des temps de rétention des pics chromatographiques avec ceux d'un mélange standard de référence, établi préalablement au laboratoire.

4. Dosage du malondialdéhyde hépatique et musculaire

La méthode de dosage du MDA a été décrite par Winterbourn et al., en 1985. Trente mg de tissu hépatique ou musculaire sont broyés dans 300 µL de PBS (pH= 7,4), puis centrifugés à 12 000 x g pendant 10 min à 4 °C. Le surnageant est récupéré et mélangé avec 150 µL de TBA (thiobarbituric acid) 1 % dissous dans du NaOH à 50 mM. Ensuite, 150 µL de HCl à 25 % sont ajoutés, l'ensemble étant incubé pendant 10 min à 100 °C. Après refroidissement, 225 µL de butanol sont ajoutés au mélange réactionnel pour récupérer la phase supérieure colorée, puis l'absorbance est mesurée à 532 nm. En parallèle, une gamme d'étalonnage est réalisée avec du 1,1,3,3tetramethoxypropane (TMP) qui réagit avec le TBA comme contrôle positif (Winterbourn et al., 1985). Les résultats sont exprimés en nmol/mg de protéines de tissu. Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (Bradford, 1976).

5. Mesure d'expression génique dans les tissus

5.1. Extraction des ARN totaux

À partir de 30 mg de tissu, les ARN totaux sont extraits à l'aide du kit Qiagen (réf. : 74104). Brièvement, le tissu est broyé dans un tube Eppendorf de 1,5 mL, avec le tampon d'extraction et un pilon, jusqu'à dissociation totale du tissu. L'ajout de la protéinase K permet d'inhiber les ribonucléases et d'éviter la contamination par les protéines dans l'échantillon. Celle-ci est ajoutée dans l'homogénat puis incubée à 55 °C pendant 10 min. Ensuite, l'ensemble est centrifugé pendant 3 min à 10 000 x g, le surnageant est récupéré, et les ARN sont précipités avec de l'éthanol à 100 %. Ce précipité est transféré sur colonne (fournie par le kit) et plusieurs lavages sont effectués de manière à obtenir des ARN purs. De plus, l'utilisation de DNase permet d'éliminer toute trace d'ADN qui pourrait contaminer l'extrait. Enfin, les ARN sont dosés par mesure de leur absorbance à 260 nm à l'aide du Nanodrop One (Thermo Fisher Scientific), qui fournit également les indications de pureté via le ratio 260/280 nm (contamination protéique) et 260/230 nm (contamination par les solvants d'extraction). L'ensemble des échantillons sont stockés à -80 °C.

5.2. La transcription inverse

Cette étape consiste à transcrire l'ARN en ADN complémentaire (ADNc). Les ARN totaux sont dilués, afin d'obtenir un extrait à 250 ng/µL. Puis, 4 µL de cet extrait est mélangé avec 1 µL d'amorces Oligo(dT)15 à 500 ng/µL et 1 µL d'amorces hexamères aléatoires à 500 ng/µL, puis le volume est ajusté à 15 µL avec de l'eau sans nucléases. Le mélange est incubé dans un thermocycleur programmable GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) à 70 °C pendant 5 minutes pour dénaturer les ARNm et induire leur association avec les amorces, puis conservé dans la glace.

Ensuite sont ajoutés 10 µL d'un mix de transcription inverse (Promega) contenant : 5 µL de tampon M-MLV 1X, 1,25 µL de dNTP à une concentration de 0,5 mM, 1 µL de transcriptase inverse M-MLV à 200 U/µL, 0,6 µL d'inhibiteur de RNAse à 25U/µL et 2,15 µL d'eau sans nucléases. Le mélange final de 25 µL est incubé dans un thermocycleur à 42 °C pendant 1h, puis l'enzyme est inactivée par une incubation à 70 °C pendant 5 minutes. Les échantillons d'ADNc sont ensuite conservés à -20 °C.

5.3. PCR quantitative

La qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) a été réalisée afin de quantifier l'expression de gènes d'intérêt. Cette technique sensible et spécifique permet de mesurer les niveaux d'ARN messager (ARNm), et ainsi d'évaluer les variations d'expression génique en réponse à nos conditions expérimentales. L'ADNc produit a été dilué 4 fois pour SOL et le foie et 8 fois pour EDL avant d'être utilisé. La PCR quantitative a été réalisée dans un système qPCR QuantStudio 3 (Applied Biosystems) avec un programme standard d'une étape d'initiation à 95 °C pendant 2 min suivie de 40 cycles d'amplification alternant 95 °C pendant 15 s pour la renaturation et 60 °C pendant 1 min pour l'élongation. Un volume de 5 µL d'ADNc a été ajouté à un mélange de 15 µL contenant 10 µL de GoTaq qPCR Master mix 2X (Promega), 1 µL de chaque amorce forward et reverse (10 µM), et 3 µL d'eau exempte de nucléase. La quantification s'observe par les valeurs de Ct (*cycle threshold*). Ainsi, plus le Ct est faible (fluorescence détectée rapidement dans la réaction), plus le transcrit correspondant au gène est abondant, donc plus le gène est exprimé. La comparaison des Ct entre les différents points de prélèvement permet de déterminer si un gène est surexprimé ou sous-exprimé.

5.4. La conception des amorces

Les séquences des transcrits des gènes à tester ainsi que les gènes de ménage ont été récupérées dans la base de données : National Center for Biotechnology Information (NCBI). Ensuite, les amorces (**Tableau 15**) ont été conçues en utilisant le logiciel Primer3 (https://primer3.ut.ee/) paramétré de la manière suivante : une température d'hybridation (Tm) de 60 ± 2 °C, une longueur de produit d'amplification entre 150 et 200 paires de bases, une longueur des amorces de 20 ± 3 paires de base, des scores de complémentarités proches de 0 et une localisation de la paire d'amorces la plus proche de l'extrémité 3' de la séquence du gène.

Gènes	Abréviation	FW (5'->3')	RV(5'->3')
Gènes des enzymes impliquées dans la synthèse des acides gras			
Stéaroyl-CoA désaturase 1	SCD-1	GGCTGAGGTCCTGGTGTCTT	GCCTCTTGTCTACACCCGCT
Désaturase des acides gras 2	FADS2	GTCCAGCCAACACACACAGC	TGTCTGCCCCTCTTTGGTGG
Élongase des acides gras à très longue chaîne 5	ELovl5	ACAAGAAAGGGGCCTCTCGG	TCACACGCCTTGGTCTGGAG
Désaturase des acides gras 1	FADS1	GGGTGGGTGGTGGACAGAAA	GGCTGACTGGTGAACGTTGC
Élongase des acides gras à très longue chaîne 2	Elovl2	ACTGTGAACTGACGGCACCA	CCGTTGACCCGCATGTTAGC
Gènes impliqués dans le transport et l'oxydation des acides gras			
Proliférateurs de peroxysomes	PPARα	GTGCATGGCTGAGAAGACGC	TGCAAAGCCTGGGATAGCCT
Carnitine palmitoyltransférase 1A	CPT1A	AGCTGGATCTGGGAAACGGG	TCGATCAATGTGGGGAGGCC
Protéine de liaison des acides gras 4	Fabp4	GCTGTACTGTCTGGGCCTCA	ATGAGAGGGTGGAGGTGCAG
Cluster de différenciation 36 (CD36)	CD36	ACTAAGCTGTTTGTGTGCCCC	ATCATCGAGTGGTGCTACTGGT
Gènes impliqués dans le transport et le stockage du glucose			
Sous-unité du récepteur de l'insuline 1	IRS1	GCACCTCTCATTCAGCCCCT	CATGCAGCGTTTGTGGACCA
Transporteur de glucose de type 4	GLUT4	TTGACCAGATCTCGGCCACC	AGTGCTGCGAGGAAAGGAGG
Glycogène synthase 1	Gys1	ACCCCATTCCCTGCCTGTTC	GCGATCCAAGAAAGGCACGG
Gènes impliqués dans la dynamique mitochondriale et la régulation du métabolisme énergétique			
Sous-unité catalytique alpha 1 de la protéine kinase activée par l'AMP	AMPKα1	TGGCTTCAGTCACCATCACCA	AGCTCCCACAACTCAGGCTC
Sous-unité catalytique alpha 2 de	AMPKα2	AGGTGGTGGAGCAGAGGTCT	GGGGAAGCGGAGGACAAAGT

la protéine kinase activée par l'AMP			
Co-activateur 1 alpha de PPARG	PGC1α	TTCCAGAAGCTCCAGTGCCC	CCTGCTCAGCCATGCCTACT
Facteur respiratoire nucléaire 1	Nrf1	CGCTGGTGTCCCTGGATCTT	CGAGTTAGGGTGTGGCAGGT
Protéine kinase 38 MAP	P38MAPK	TGCCAGGAATGGAGCCACAT	CATGGAGAAAACTGCCGCCC
Facteur respiratoire nucléaire 2	Nrf2	ATGCCTTCCTCTGCTGCCAT	TCGGCTGGGACTTGTGTTCA
		Gènes de ménage	
Tubuline alpha 1	Tubα	CCACTTCCCTCTGGCCACTT	GGGACCACATCACCACGGTA
Actine bêta	Actb	GCCTTAGCCTGGACCCATAGT	TGGAAGGTGGACAGTGAGGC
Protéine ribosomale S9	Rps9	ATTGGGGTGCTGGATGAGGG	AGATTTACAGGCCCAGCTGCA
Protéine ribosomale P0	Rplp0	AGCATCTGGTGTGAGAGGGC	ACAGACAAAGCCAGGACCCT

Tableau 15 : Couples d'amorces utilisés pour la qPCR

5.5. Test d'efficacité des amorces

À partir d'un échantillon contrôle de foie ou de muscle, plusieurs dilutions de l'ADNc (250 ng/µL d'ARN) obtenu ont été préparées (1/10, 1/100, 1/200, 1/400 et 1/800), chacune réalisée en triplicat. De l'eau sans nucléase a été utilisée comme contrôle négatif. Les valeurs de Ct obtenues ont ensuite été tracées en fonction du log10 de la concentration d'ADNc. L'efficacité d'amplification (E) a été calculée à partir de la pente de la droite de régression linéaire selon l'équation suivante :

$$E = 10^{-\frac{1}{a}} - 1$$

où E est l'efficacité et *a* la pente de la droite. Un exemple de telles droites est présenté dans la **Figure 47**.

La sélection du gène de référence repose sur ce pourcentage d'efficacité, qui reflète la capacité du système de qPCR à doubler la quantité d'ADN cible à chaque cycle. Une efficacité comprise entre 80 % et 120 % est généralement considérée comme acceptable pour garantir la fiabilité et la reproductibilité des résultats. Les résultats (**Figure 47**) ont révélé que, parmi l'ensemble des gènes de ménage testés, l'α-tubuline présentait une efficacité proche de 100 %, indiquant une amplification optimale. Par ailleurs, sa valeur de Ct se situe entre 20 et 30, une plage considérée

comme idéale pour un gène de référence, car elle reflète une expression modérée et stable, comparable à celle des gènes d'intérêt. Cela permet d'éviter les biais dus à des expressions trop fortes ou trop faibles, et assure une normalisation fiable des données de qPCR. Pour ces raisons, ce gène a été retenu pour l'ensemble des mesures réalisées.

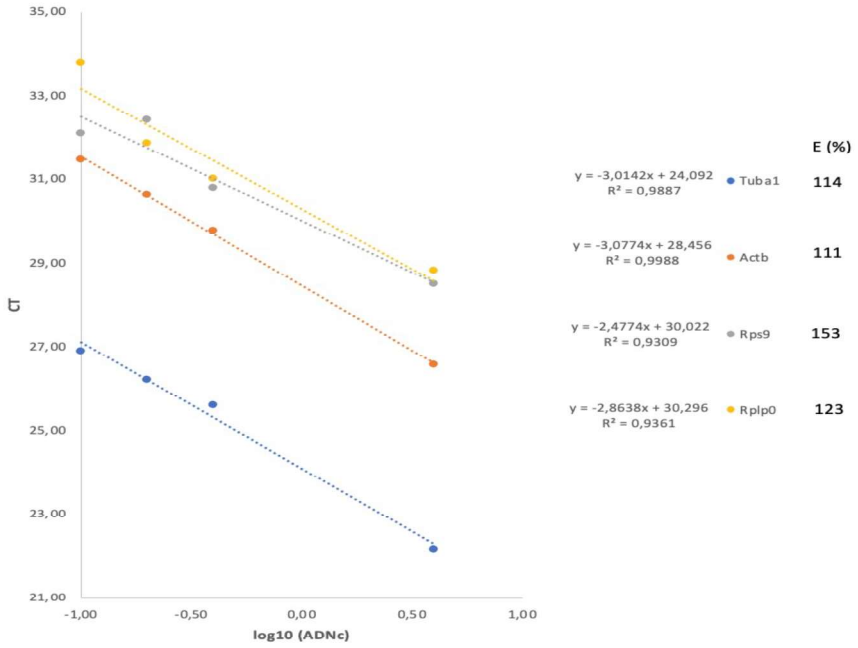


Figure 47 : Détermination de l'efficacité des amorces des gènes de ménage par dilution. E : efficacité

5.6. Mesure de l'expression de gênes cibles

L'ensemble des échantillons a été analysé par qPCR en utilisant le gène de ménage sélectionné comme référence. Les valeurs de Ct obtenues ont été traitées selon la méthode du $2^{-\Delta\Delta Ct}$ afin de déterminer les variations relatives d'expression génique (Livak and Schmittgen, 2001). Les données obtenues permettent d'observer la sous-expression et la surexpression relative par rapport à l'ensemble des valeurs du groupe contrôle mesurées.

6. Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Les résultats sont exprimés en moyenne ± erreur standard sur la moyenne (SEM). La normalité des distributions a été évaluée pour chaque condition expérimentale à l'aide du test de Shapiro–Wilk. Lorsque la normalité était respectée, une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a été utilisée pour les comparaisons entre groupes. L'homogénéité des variances a été vérifiée à l'aide des tests de Brown–Forsythe et de Bartlett. En cas de non-respect des conditions de normalité et d'homogénéité des variances, une analyse non paramétrique par le test de Kruskal–Wallis a été réalisée. En revanche, si la normalité était respectée, mais qu'au moins un test d'homogénéité des variances était significatif, une analyse de variance de Welch (Welch ANOVA) a été réalisée. Les comparaisons post-hoc ont été effectuées à l'aide du test de Tukey pour les analyses paramétriques, ou du test de Dunn pour les analyses non paramétriques. Lorsque deux groupes indépendants étaient comparés, un test t de Student a été utilisé en cas de distribution normale, ou le test de Mann–Whitney dans le cas contraire. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$ pour l'ensemble des analyses.

V. Résultats

1. **Publication 1 :** Combined effects of Spirulina liquid extract and endurance training on aerobic performance and muscle metabolism adaptation in Wistar rats (Nutrients, 17, 2025, 283, doi.org/10.3390/nu17020283).

Cette étude explore l'impact combiné du SLE et de l'entraînement d'endurance sur la performance aérobie et l'adaptation musculaire chez le rat mâle Wistar. L'activité physique intense génère du stress oxydatif. Toutefois, un niveau minimum d'ERO est nécessaire pour permettre des adaptations musculaires. Les antioxydants, notamment ceux activant la voie Nrf2 comme la PC, pourraient favoriser ces adaptations sans en bloquer les bénéfices. L'étude vise donc à évaluer comment le SLE influence le métabolisme énergétique, le stress oxydatif et l'expression génique dans deux muscles aux profils différents : le SOL (fibre à tendance dominante de type I) et l'EDL (fibre à tendance dominante de type II).

Les résultats ont montré que la supplémentation en SLE combinée avec un entraînement en endurance améliore significativement la performance physique chez le rat, comme en témoigne l'augmentation de la VMA. Ces données suggèrent que le SLE pourrait potentialiser les adaptations physiologiques induites par l'exercice. Le test de tolérance au glucose a mis en évidence un effet bénéfique de la supplémentation en SLE sur la régulation de la glycémie dans un contexte de régime standard, possiblement lié à une augmentation des concentrations plasmatiques d'insuline observée dans cette condition. Ces données suggèrent une amélioration de la sensibilité à l'insuline et de l'homéostasie glucidique, pouvant contribuer aux gains de performance aérobie observés. Par ailleurs, dans la condition combinant entraînement et supplémentation, le test de tolérance au glucose a révélé une atténuation significative du pic glycémique à 15 minutes post-injection, habituellement observé après la charge en glucose. Cette réponse atténuée traduit un effet protecteur de l'association du SLE et de l'entraînement sur la régulation postprandiale de la glycémie. Les taux plasmatiques de TG et de cholestérol total n'ont pas été significativement modifiés, ce qui est cohérent pour des mesures réalisées dans des conditions nutritionnelles équilibrées. Toutefois, une diminution des niveaux de HDL-cholestérol a été observée avec l'entraînement seul. Cet effet n'a pas été observé avec la supplémentation en SLE, suggérant que le SLE n'agit pas sur le HDL-cholestérol. Ensuite, la supplémentation en SLE a montré un effet antioxydant dans les conditions d'entraînement en endurance, comme en témoigne la diminution des niveaux de MDA dans le muscle, indiquant une réduction du stress oxydatif potentiellement induit par l'exercice. A l'échelle moléculaire,

l’entraînement en endurance a induit une régulation positive des gènes associés à la biogenèse mitochondriale et à la réponse au stress oxydatif, en particulier Nrf2 et PGC1α. La supplémentation en SLE a également activé certains de ces gènes, bien que leur expression n’ait pas été significativement amplifiée dans le groupe combinant SLE et entraînement. Par ailleurs, l'entraînement a stimulé l'expression des gènes liés au métabolisme énergétique, tels que CPT1A et GLUT4, favorisant potentiellement l’oxydation des acides gras et le stockage du glycogène. La supplémentation en SLE combinée avec l'entraînement a renforcé l’expression de ces gènes. Ces effets pourraient contribuer à une meilleure mobilisation et oxydation des substrats énergétiques par les muscles et donc expliquer une meilleure performance aérobie mesurée. Des différences ont été observées entre les muscles étudiés : le muscle SOL, riche en fibres oxydatives (lentes), a montré des réponses plus marquées au niveau du stress oxydatif et de la biogenèse mitochondriale, comparativement au muscle EDL, constitué principalement de fibres glycolytiques (rapides). Les effets du SLE étaient particulièrement prononcés dans le muscle SOL, concernant le métabolisme lipidique. Ainsi, la supplémentation en SLE, associée à un entraînement en endurance, a permis d’améliorer la performance aérobie, de réduire le stress oxydatif, et d’optimiser le métabolisme des substrats énergétiques tels que les lipides et le glycogène. De plus, les effets bénéfiques observés sur la régulation de la glycémie et de l’insulinémie soulignent l’intérêt potentiel de cette approche dans la prise en charge du diabète de type 2, de l’obésité et des maladies cardiovasculaires

nutrients

MDPI

Article

Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats

Jordi Vignaud [1], Céline Loiseau [1], Martine Côme [1], Isabelle Martin [1], Rova Rasoanarivo [1], Josiane Hérault [1], Claire Mayer [1], Olivier Lépine [2] and Lionel Ulmann [1,*]

[1] BiOSSE, Biology of Organisms, Stress, Health, Environment, Institut Universitaire de Technologie, Département Génie Biologique, Le Mans Université, 53020 Laval, France; jordi.vignaud@univ-lemans.fr (J.V.); celine.loiseau@univ-lemans.fr (C.L.); martine.come@univ-lemans.fr (M.C.); isabelle.martin@univ-lemans.fr (I.M.); rova.rasoanarivo@gmail.com (R.R.); josiane.herault@univ-lemans.fr (J.H.); claire.mayer@univ-lemans.fr (C.M.)

[2] AlgoSource, 44350 Guérande, France; olivier.lepine@algosource.com

* Correspondence: lionel.ulmann@univ-lemans.fr

Abstract: Background: Physical activity, such as running, protects against cardiovascular disease and obesity but can induce oxidative stress. Athletes often consume antioxidants to counteract the overproduction of reactive oxygen and nitrogen species during exercise. *Spirulina*, particularly its phycocyanin content, activates the Nrf2 pathway, stimulating antioxidant responses. Studies show that phycocyanin enhances antioxidant defenses and reduces inflammation, potentially improving muscle adaptation and recovery. This study evaluates a *Spirulina* liquid extract (SLE) supplementation during endurance training, hypothesizing that phycocyanin improves oxidant status and performance in soleus and extensor digitorum longus muscles. Methods: Three-week-old male Wistar rats were divided into four groups: a sedentary control group (C), a sedentary group supplemented with SLE (SP), an endurance training group (T), and an endurance training group supplemented with SLE (SPT). After 8 weeks of treadmill training, blood and muscle were collected. Biochemical parameters and gene expression analyses were performed to assess the effects of training and supplementation. Results: The maximal aerobic speed improved significantly in the SPT group. Plasma lipid profiles showed a reduction in triglyceridemia, cholesterolemia, and atherogenic index in the trained groups, especially with SLE supplementation. Muscle malondialdehyde levels decreased in the SPT group compared to T. Gene expression analysis revealed upregulation of Nrf2 and mitochondrial biogenesis genes in both muscles, with differences between groups for genes related to glycogen storage and β-oxidation. Conclusions: This study demonstrated that SLE supplementation enhanced exercise performance and promoted muscle molecular adaptations. These findings suggest SLE as a promising functional food supplement for athletes, optimizing recovery and performance.

Keywords: endurance training; *Spirulina* liquid extract; muscle performance; antioxidants

check for updates

Academic Editor: Darryn S. Willoughby

Received: 22 November 2024
Revised: 31 December 2024
Accepted: 10 January 2025
Published: 14 January 2025

Citation: Vignaud, J.; Loiseau, C.; Côme, M.; Martin, I.; Rasoanarivo, R.; Hérault, J.; Mayer, C.; Lépine, O.; Ulmann, L. Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats. *Nutrients* **2025**, *17*, 283. https://doi.org/10.3390/nu17020283

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Physical activity is recognized as an essential element of a healthy lifestyle that protects against cardiovascular disease and obesity [1,2]. Running is the most accessible activity and is practiced worldwide for a healthy life, for competition, or for weight loss. Acute exercises can lead to elevated stress levels, such as oxidative stress or inflammation. When

repeated, they are considered as endurance training sessions where adaptations are able to improve mitochondrial biogenesis and antioxidant status [3,4]. To improve these effects and to increase training volume, athletes consume various food supplements such as proteins, carbohydrates, omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA), minerals, vitamins, or antioxidants [5]. Antioxidants in athletes' diets help compensate for the overproduction of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) and inflammation during aerobic exercise [6]. These supplements aim to improve performance, muscle adaptation, or recovery, and further enhance the benefits of exercise [7]. During endurance training, consistent ATP production is essential, requires the high activation of several pathways, and increases mitochondrial activity. At the same time, the activity of oxidase xanthine and NADPH induces a high production of RONS which can lead to oxidant stress [8]. These RONS can affect performance, specifically during long endurance events, exhaustive exercise, or extended and repeated high-intensity exercise bouts [9,10]. This is explained by the impact of RONS on DNA damage, protein breakdown, lipid peroxidation, and apoptosis, which leads to impaired skeletal muscle excitation–contraction coupling [11–13]. In contrast, other studies have demonstrated that some RONS production is necessary for muscle and mitochondria adaptations after exercise [14–16]. These adaptations occur through specific muscle genes, such as nuclear respiratory factor 1 (Nrf1), or mitochondrial transcription factor A, which are activated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC1α) after being stimulated by RONS [14,17]. Then, primary antioxidant supplementation, such as vitamin C or E, can directly scavenge and neutralize the RONS. However, this type of supplementation requires caution due to hindering muscle adaptation in both resistance and aerobic training conditions. [9,15,18,19]. Conversely, other studies suggest that secondary antioxidants, which activate the nuclear factor-like 2 (Nrf2) pathway, can stimulate antioxidant response elements (ARE), potentially enhancing muscle performance and recovery [20–22].

Among food supplements that can provide bioactive molecules such as proteins, carbohydrates, omega-3 PUFA, minerals, vitamins, or antioxidants, microalgae are promising sources [23]. In the various world of microalgae, *Arthrospira platensis*, or *Spirulina*, is identified as cyanobacteria and is known to have antioxidant activity due to its high content in the C-phycocyanin (PC), a water-soluble protein [24]. This protein is composed of α and β subunits and is bound to phycocyanobilin [25]. PC is recognized as a Nrf2 activator that regulates genes for the ARE response [26]. Studies have demonstrated the effects of PC with a strong antioxidant effect through Nrf2 pathways [27] and anti-inflammatory activity [28]. *Spirulina* liquid extract (SLE) obtained from *Arthrospira platensis* is a liquid extract concentrated in phycocyanin produced by AlgoSource (Guérande, France). In recent studies, SLE has been reported to increase antioxidant defense in mice and hamster models after hypercaloric diet consumption [29,30]. Another study demonstrated in Sprague-Dawley rats that PC alone could increase ARE without changing the content of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the gastrocnemius muscle, a biomarker of lipid peroxidation [31]. This suggests that the mechanism of action of PC might not be directed against RONS, but rather stimulate the activation of AREs, which are themselves regulated by a Nrf2 transcription factor.

This study aims to evaluate the effects of the SLE food supplement, in combination with endurance training, on biochemical parameters and gene expression related to lipid metabolism, glucose metabolism, oxidative status, and mitochondrial pathways in the soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) muscles. We propose that the antioxidant activity of PC contained in SLE could act on the Nrf2 transcription factor and improve oxidant status. This could lead to an improvement in performance measured by maximal aerobic speed (MAS) and molecular adaptation in two muscles with different fiber types.

2. Materials and Methods

2.1. Animals, Supplementation, and Diets

Thirty-two 3-week-old male Wistar rats, with an initial weight of 120 ± 10 g, were obtained from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). They were housed four per cage under controlled conditions of temperature (22 ± 2 °C), humidity (40–60%), and with a 12 h light/dark cycle. During a week of acclimatization, all animals were fed ad libitum with the standard diet A04 (SAFE, Augy, France) and had free access to tap water.

After a week of adaptation, the animals fed with the standard diet A04 (SAFE, Augy, France) were randomly divided into four groups of eight rats according to their running capacity and food supplement associated with diet. The following groups were determined: a sedentary control group (C); an endurance training group (T); a sedentary group with a diet supplemented with SLE (SP); and an endurance training group with a diet supplemented with SLE (SPT). According to the manufacturer's information, the standard diet A04 is composed of carbohydrates (72%), proteins (19%), and lipids (8%) for a total energy of 3.35 kcal/g. The SLE was added to drinking water at a concentration of 1.1 mg/100 g of bodyweight. The SLE (Spirulysat®, number of patent: 17 52452) was kindly supplied by AlgoSource (Guérande, France). Its composition (mg/100 mL extract) is as follows [29]: phycocyanin (mg/L) 883; carbohydrates (g/100 g) 0.4; amino acids (g/100 g); threonine 0.009; aspartate 0.0187; alanine 0.0168; arginine 0.0138; leucine 0.0164; glutamate 0.022; ions (mg/kg): Fe^{2+} 1.05, Mg^{2+} 18, Ca^{2+} 330, K^{+} 55, Cu^{2+} 0.2. According to its composition (the calorie value is 7 kJ/100 g dry matter) and the daily provided dose, the SLE caloric supplement was considered negligible. The food supplement was provided for 8 weeks. The daily food and water consumption were evaluated for 8 weeks. The body weight gain of the rats was monitored three times a week and before training.

All thirty-two rats were euthanized at the end of the experimental protocol without any sign of pain, suffering, or distress. According to the animal well-being respect, no exclusion criteria were used. Similarly, no inclusion criteria were necessary. The experimental procedures, the justification of the use of an animal model, and the details related to the respect of the rule of 3R (housing and husbandry, well-being, animal care, and monitoring) were approved by the Ethical Committee 006 Pays de la Loire and by the French Ministry of National Education, Higher Education and Research (procedure APAFIS #40394-202301111324826 v6, 23 February 2023).

2.2. Endurance Training Protocol

During one week, all groups were adapted to a treadmill (BIOSEB, Vitrolles, France), based on gradually increasing speed from 11 to 21 cm/s (Table 1). This week of acclimatization was planned to limit any stress phenomena related to the equipment that will be used and to determine the running animals. Moreover, the established limit points and observations made during the running protocols helped to avoid the installation of stress.

Rats with running dispositions were selected, and groups were formed based on the initial weighing and according to food supplement (T and SPT). For these groups, on the last day of the adaptation week, maximal aerobic speed (MAS) was measured to adjust the treadmill speed for the first week of training (Table 1). To force the rats to run, each running track was equipped with a grid at which short-term and low-intensity electrical stimulation could be administered. The number of stimulations could vary from 30 to 90 according to the race time. Indeed, according to our previous observations in the laboratory, it was accepted that rats could be stimulated once per minute. To limit any stress or anxiety phenomenon, a grid for evaluating the response of the rats to this learning was set up. The treadmill was able to count the number of stimulations for each rat. Moreover, the state of fatigue of each rat was quantified visually by the experimenter present throughout

the race. Thus, when the animal remained on the grid for more than 3 s, it was taken out and put back with its congeners until the next day. The training sessions were conducted using a treadmill and were 5 days out of 7. The MAS protocol began with a running speed of 15 cm/s, increasing by 3 cm/s every minute, then by 2 cm/s in the following minute, and alternating between 3 cm/s and 2 cm/s increments until exhaustion (adapted form of [32,33]). The MAS was measured before each training block, allowing the training speed of the following block to be adjusted (Table 1). Indeed, endurance develops when the running speed corresponds to 60–80% of the MAS. Therefore, the first block of 3 weeks was structured as follows: week 1, 60% of the MAS; week 2, 70% of the MAS; week 3, 80% of the MAS. Starting from block 2, sprints were added in addition to the training speed to improve the MAS and further stress the mitochondrial tissue [34]. Additionally, a short warm-up of 6 min at 15 cm/s up to 30 cm/s was applied before each MAS test or daily training session [35].

Table 1. Training protocol conducted for 8 weeks with 1 week of adaptation.

	Weeks	Running Time (min)	Speed (cm/s)	MAS Measurement	Sprints
Adaptation	1	10	11–16–21	X	
Block 1	2	25	60% average MAS		
	3	30	70% average MAS		
	4	30	80% average MAS	X	
Block 2	5	60	60% average MAS		30 s at 70% of the average MAS every 10 min
	6	60	70% average MAS		30 s at 80% of the average MAS every 10 min
	7	60	80% average MAS	X	30 s at 90% of the average MAS every 10 min
Block 3	8	60–70	60% average MAS		1 min at 80% of the average MAS every 13 min
	9	60	70% average MAS	X	1 min at 90% of the average MAS every 13 min

2.3. Glucose Tolerance Test

At the beginning of the 7th week, a glucose tolerance test (GTT) was performed on all animals. The training activity was stopped two days before to avoid any training effects, and the rats were fasted the day before the test. Briefly, each rat was given an intraperitoneal injection of glucose (1 g/kg BW) followed by measurement of blood glucose level from the tail vein with a glucometer (Freestyle Papillon Vision, Abbott Diabetes Care, Rungis, France). The volume of insulin solution used for intraperitoneal injection complied with the recommendations. Specifically, the volume was less than 1 mL per 100 g of bodyweight. Concerning animal welfare, a 20% glucose solution was ready to be injected in case of hypoglycemic attack (glycemia < 0.7 g/L) or absence of reaction. The glucose levels were measured at 0 (before the glucose challenge), 15, 30, 60, 90, and 120 min after injection of glucose. On the test day, no exercise was performed, and running was resumed the following day.

2.4. Blood and Muscle Sampling

Following the last day of training, 3 days were allowed to avoid any acute effects of exercise [36–38]. The rats were anesthetized with a diazepam (5 mg/mL) and ketamine (Imalgene 1000, Boehringer Ingelheim Animal Health, Lyon, France, 100 mg/mL) (4:3, *v*/*v*) mixture administered intraperitoneally, before exsanguination. All the blood was collected by abdominal aortic puncture. Restraint and injection during anesthesia were performed

by qualified technicians and researchers in animal experimentation, which avoided any stress on the animal. Moreover, anesthesia was performed in a room isolated from other congeners. The chemical molecules and doses administered were adapted to the animal model used. A reflex test was performed to check the state of anesthesia and a visual check of the death of the animal was performed after total exsanguination.

Blood was collected via the abdominal aorta, with an anticoagulant ACD (citric acid, citrate, dextrose) solution composed of 130 mM citric acid, 170 mM trisodium citrate, and 4% dextrose added to the collection tube. The blood samples were then centrifuged at 1000× *g* for 10 min. The supernatant corresponding to plasma and the red blood cell pellet were collected, aliquoted, and stored at −80 °C.

The right leg soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) muscles were taken and aliquoted for biochemical and molecular biology analyses. All samples were stored at −80 °C. Additionally, tibial length (TL) was measured using a caliper graduated in centimeters. All collected tissues were normalized to 100 g of body weight, expressed as g/100 g BW, as well as to tibial length, expressed as g/cm TL.

2.5. Plasma Parameter Analysis

The plasma concentrations of triglycerides (CAK-1086 Clinisciences, Nanterre, France), total cholesterol (KA3709 Clinisciences, Nanterre, France), high-density lipoprotein cholesterol (90406 Biolabo, Maizy, France), insulin (17475383 Thermo Fisher Scientific, Illkirch-Graffenstaden, France), and interleukin-6 (Ab100772 Abcam, Cambridge, UK) were measured according to the manufacturer's instructions. The no high-density lipoprotein cholesterol (non-HDL-Chol) was calculated with total cholesterol minus HDL-Chol [39]. The atherogenic index of plasma (AIP) was determined with the following formula: $AIP = log_{10}(\frac{TG}{HDL-Chol})$ [40].

2.6. Muscle Malondialdehyde Analyses

Muscle tissue (~30 mg) was homogenized in 300 µL of PBS (pH 7.4) on ice to prevent lipid degradation. The homogenate was vortexed and centrifuged at 12,000× *g* for 10 min at 4 °C. The supernatant was collected, and 150 µL was mixed with an equal volume of 1% thiobarbituric acid (TBA, prepared with 50 mM NaOH and heated to 100 °C until clear). An equal volume of 25% HCl was then added and vortexed again. The mixture was incubated in a 100 °C water bath for 10 min, followed by a 5-min incubation on ice. After cooling, 225 µL of n-butanol was added, vortexed, and centrifuged at 12,000× *g* for 10 min. The upper phase was measured at 532 nm. This method was adapted from Winterbourn et al. [41].

Muscle sample total protein was quantified using the Bradford method and malondialdehyde (MDA) concentration was normalized to total protein concentration.

2.7. Muscle RNA Extraction and Gene Expression

Thirty mg of each muscle was used for total RNA extraction, using the RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Abcam, ID: 74704, Cambridge, UK). The RNA was quantified by measuring its absorbance at 260 nm using the Nanodrop One (Thermo Fisher Scientific, Illkirch-Graffenstaden, France).

Reverse transcription of the RNA extracts was conducted using a M-MLV Reverse Transcriptase (RT) (Promega) in a GeneAmp PCR System 9700 (Thermo Fisher Scientific, Illkirch-Graffenstaden, France). In the first step, 1 µg of RNA of each sample, 500 ng of oligo(dT)15 primers, and 500 ng of random hexamer primers was incubated in a volume of 15 µL at 70 °C for 5 min for annealing. Then, in a second step, 10 µL of a mix of dNTP (0.5 mM), M-MLV RT (200 U), RNAse inhibitor (25 U), and M-MLV 1X buffer was added

and the tubes were incubated at 42 °C for 1 h, and then at 70 °C for 5 min, to inactivate the enzyme.

The produced cDNA was diluted four times for SOL and eight times for EDL before use. Quantitative PCR was performed in a QuantStudio 3 qPCR system (Applied Biosystems) with a standard program of an initiation step at 95 °C for 2 min followed by 40 amplification cycles alternating 95 °C for 15 s for annealing, and 60 °C for 1 min for elongation. A volume of 5 µL of cDNA was added to a 15 µL mix containing 10 µL of GoTaq qPCR Master mix 2X (Promega, Madison, WI, USA), 1 µL of each primer forward and reverse (10 µM), and 3 µL of nuclease-free water.

The primers were designed using Primer3 software 4.1.0 with the following parameters: an annealing temperature (Tm) of 60 ± 2 °C, amplification product lengths between 150 and 200 base pairs, primer lengths of 20 ± 3 base pairs, complementarity scores near 0, and primer pairs positioned as close as possible to the 3′ end of the gene sequence. A detailed list of all primers is provided in Table 2. To calculate relative expression, tubulin α (Tubα) was chosen as the housekeeping gene. Finally, the expression level was determined by the $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ method and normalized to tubulin α as the housekeeping gene [42].

Table 2. Primers sequences for the real-time PCR reaction.

Genes	Abbreviations	Forward Primers	Reverse Primers
Redox status			
P38 Mitogen-Activated Protein Kinases	P38MAPK	TGCCAGGAATGGAGCCACAT	CATGGAGAAAACTGCCGCCC
Nuclear respiratory factor 2	Nrf2	ATGCCTTCCTCTGCTGCCAT	TCGGCTGGGACTTGTGTTCA
B-oxidation			
Carnitine Palmitoyltransférase 1A	CPT1A	AGCTGGATCTGGGAAACGGG	TCGATCAATGTGGGGAGGCC
Fatty acid binding protein 4	Fabp4	GCTGTACTGTCTGGGCCTCA	ATGAGAGGGTGGAGGTGCAG
Cluster of Differentiation 36	CD36	ACTAAGCTGTTTGTGTGCCCC	ATCATCGAGTGGTGCTACTGGT
Glycogen storage			
Glucose Transporter 4	GLUT4	TTGACCAGATCTCGGCCACC	AGTGCTGCGAGGAAAGGAGG
Glycogen synthase 1	Gys1	ACCCCATTCCCTGCCTGTTC	GCGATCCAAGAAAGGCACGG
Insulin Receptor Substrate 1	IRS1	GCACCTCTCATTCAGCCCCT	CATGCAGCGTTTGTGGACCA
Mitochondrial biogenesis pathway			
Protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 1	AMPKα1	TGGCTTCAGTCACCATCACCA	AGCTCCCACAACTCAGGCTC
Protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 2	AMPKα2	AGGTGGTGGAGCAGAGGTCT	GGGGAAGCGGAGGACAAAGT
PPARG Coactivator 1 alpha	PGC1α	TTCCAGAAGCTCCAGTGCCC	CCTGCTCAGCCATGCCTACT
Nuclear respiratory factor 1	Nrf1	CGCTGGTGTCCCTGGATCTT	CGAGTTAGGGTGTGGCAGGT
Housekeeping gene			
Tubulin alpha 1	Tubα	CCACTTCCCTCTGGCCACTT	GGGACCACATCACCACGGTA

2.8. Statistical Analysis

The statistical power analysis was performed using G*Power (version 3.1). Since the study involved independent groups without repeated measures, the "F test" family was selected, and the tool "ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way" was used. The margin of error in the power analysis was set at 5% ($\alpha = 0.05$), and the desired power value was 95% ($1 - \beta = 0.95$). The calculation was performed using the mean values obtained in this study to estimate the effect size. Based on these calculations, we determined that a sample size of **n = 5 per group** was sufficient for statistical validity. However, flexibility was allowed for sample sizes between **n = 5–8 per group** to account for potential exclusions due to aberrant values or measurement failures. In addition, the exclusion of a value was verified by a ROUT statistical test (Q = 1%), and whether the value was twice different from the average of the other values. Statistical analyses were generated with Prism (GraphPad

Software Inc., San Diego, CA, USA). Descriptive measurements were presented as mean ± SEM (standard error of the mean). The normality was verified with Shapiro–Wilk or Kolmogorov–Smirnov tests. The significance level was set at $p < 0.05$. Differences between groups were assessed using a one-way ANOVA with parametric tests (Brown–Forsythe test and Bartlett's test) or non-parametric tests (Kruskal–Wallis test), depending on normality. Post-hoc comparisons were performed using Tukey's or Dunn's tests. For paired data, the Holm–Sidak's multiple comparisons test was used. When comparing two independent groups, a student's *t*-test was performed with a normal distribution. If the data did not follow a normal distribution, a Mann–Whitney U test was conducted.

3. Results

3.1. Nutritional Monitoring

Food and water intake were measured daily, with SLE being added to the water for the SP and SPT groups. During the training protocol, food intake (Figure 1A) significantly decreased in the T group compared to the C group between weeks 1 and 4.

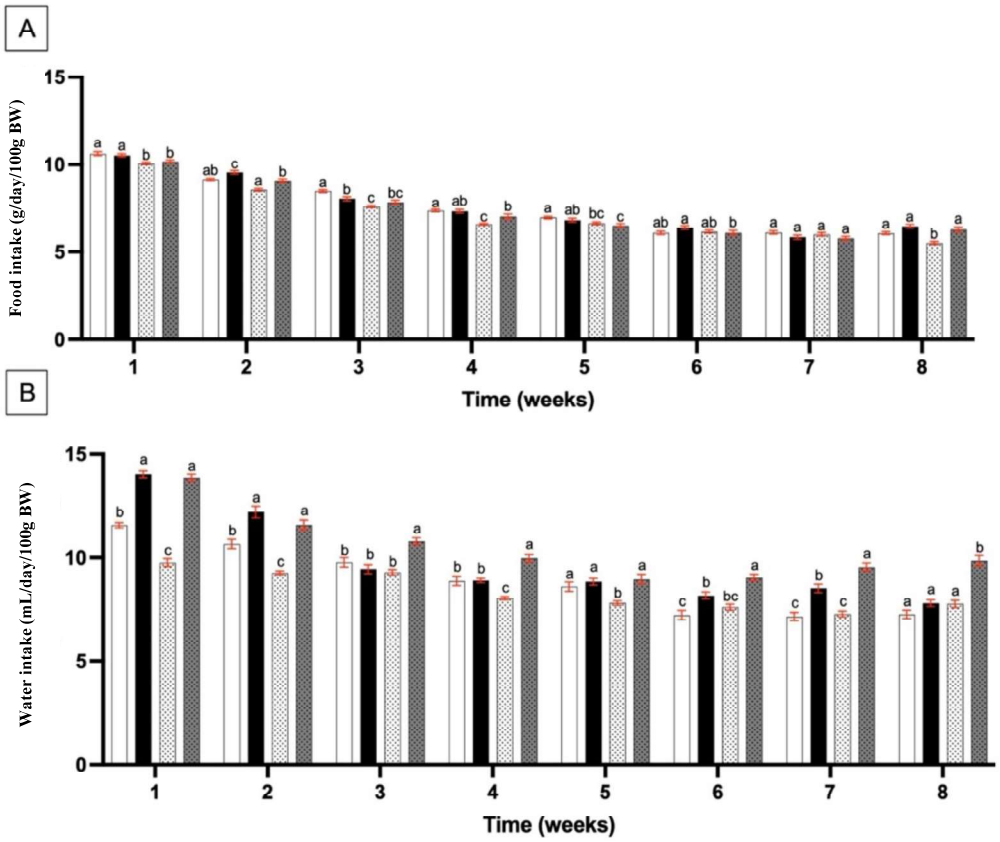


Figure 1. Nutritional monitoring. The figure shows the average food (**A**) and water intakes (**B**) relative to 100 g of bodyweight (g/week/100 g BW) in rats over 8 weeks. C (▭), sedentary control group; SP (■), sedentary group supplemented with SLE; T (▨), endurance training group; and SPT (▩), endurance training group supplemented with SLE. Each bar represents the mean ± SEM (n = 8) for each group. Significant differences between groups at each time point are indicated by different letters (a > b > c) above the bars, with $p < 0.05$ considered statistically significant.

From the 5th week onwards, stagnation appeared in all groups; although, in the last week, food intake in the T group was significantly lower compared to all other groups. No major effect of SLE supplementation was observed, though a significant increase in food intake was noted at weeks 2, 4, and 8 in the SPT group compared to the T group. The mean

food intake over the 8 weeks did not show any significant differences between the different groups (Table 3).

Table 3. Effects of SLE and training on physical and nutritional parameters in rats.

Parameters	C	SP	T	SPT	n
Characteristics					
Bodyweight (g)	454 ± 9^{a}	466 ± 10^{a}	421 ± 5^{b}	405 ± 10^{b}	5–7
Soleus (mg/100g BW)	44.5 ± 1.3^{b}	45.1 ± 1.5^{b}	51.3 ± 1.4^{a}	48.3 ± 1.8^{ab}	7–8
EDL (mg/100g BW)	43.3 ± 0.9^{ab}	40.7 ± 1.9^{b}	43.7 ± 1.8^{ab}	47.4 ± 0.7^{a}	8
Tibial length (cm)	4.10 ± 0.01^{a}	4.00 ± 0.05^{a}	4.11 ± 0.02^{a}	3.96 ± 0.04^{a}	8
Soleus (mg/cm TL)	48.0 ± 1.1^{a}	53.8 ± 2.5^{a}	52.6 ± 1.9^{a}	50.2 ± 2.4^{a}	8
EDL (mg/cm TL)	46.8 ± 1.1^{a}	49.8 ± 2.7^{a}	45.6 ± 1.8^{a}	48.7 ± 1.3^{a}	8
Nutritional parameters					
Food intake (g/day/100g BW)	7.5 ± 0.2^{a}	7.6 ± 0.2^{a}	7.1 ± 0.2^{a}	7.3 ± 0.2^{a}	8
Water intake (mL/day/100g BW)	8.8 ± 0.2^{bc}	9.7 ± 0.3^{ab}	8.4 ± 0.2^{c}	10.3 ± 0.3^{a}	8
Food intake/weight gain to W1 at W4 (pearson correlation)	r = −0.4074 $p = 0.0206$	r = −0.2302 $p = 0.0695$	r = 0.0075 $p = 0.9673$	r = 0.1839 $p = 0.1490$	8
Food intake/weight gain to W4 at W8 (pearson correlation)	r = 0.5340 $p = 0.0016$	r = 0.1219 $p = 0.3414$	r = 0.0519 $p = 0.7777$	r = 0.6341 $p < 0.0001$	8
Food intake/weight gain (pearson correlation)	r = −0.0523 $p = 0.6814$	r = 0.0742 $p = 0.5601$	r = −0.2176 $p = 0.0882$	r = 0.2285 $p = 0.0694$	8

The table presents mean values ± SEM of various physical and nutritional parameters measured in the four groups of rats: C, sedentary control group; SP, sedentary group supplemented with SLE; T, endurance training group; and SPT, endurance training group supplemented with SLE. The sample size for each parameter is indicated in the n column. Physical characteristics include body weight, soleus, and extensor digitorum longus (EDL) muscle weight relative to 100 g of bodyweight or tibial length. Nutritional parameters include daily food and water intake. Pearson correlation coefficients (r) and associated *p*-values are provided to indicate the strength and significance of the relationships between food intake and weight gain across various time points. Groups with different superscript letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between them ($p < 0.05$).

3.2. Bodyweight Evolution

Bodyweight (BW) was measured three times per week over the 8-week period. A continuous increase in BW was observed in all groups until the 4th week (Figure 2).

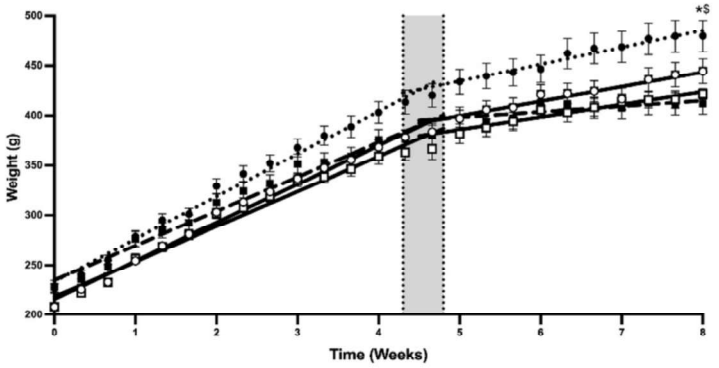


Figure 2. Bodyweight evolution. The figure shows bodyweight evolution of rats over 8 weeks. C (—○—), sedentary control group; SP (•—●—•), sedentary group supplemented with SLE; T (—□—), endurance training group; and SPT (—●—•), endurance training group supplemented with SLE. Each point represents the mean ± SEM (n = 8) for each group. * indicates a difference between C and T, and $ indicates a difference between SP and SPT for $p < 0.05$.

Similar to food and water intake, a decrease in the BW evolution was observed after the 5th week. At the end of the 8th week, a decrease in BW was observed in the T and SPT groups compared to the C and SP groups, with no significant effect of SLE (Figure 2). Pearson correlations were calculated between food intake and weight gain (Table 3). No significant correlation was found before or after the 5th week, or at the end of supplementation.

3.3. Muscle Weights and Tibia Length

After euthanasia, collected muscles were weighed, and tibia length was measured. The SOL and EDL muscles, which are engaged during running, were activated during endurance training on the treadmill. When the SOL muscle mass was normalized to BW, a significant increase in mass was observed in the T group compared to the C group (Table 3). However, no such difference was observed with SLE supplementation. In contrast, for the EDL muscle, a significant increase in mass was observed in the SP and SPT groups, but not in the C and T groups. When muscle mass was normalized by tibia length, no differences were observed between the groups (Table 3).

3.4. Glucose Tolerance Test

The glucose tolerance test (GTT) was conducted on the first day of the 7th week, 48 h after the last training session. Fifteen minutes after glucose injection, glycemia levels were significantly reduced in the SPT group compared to the other groups (Figure 3A).

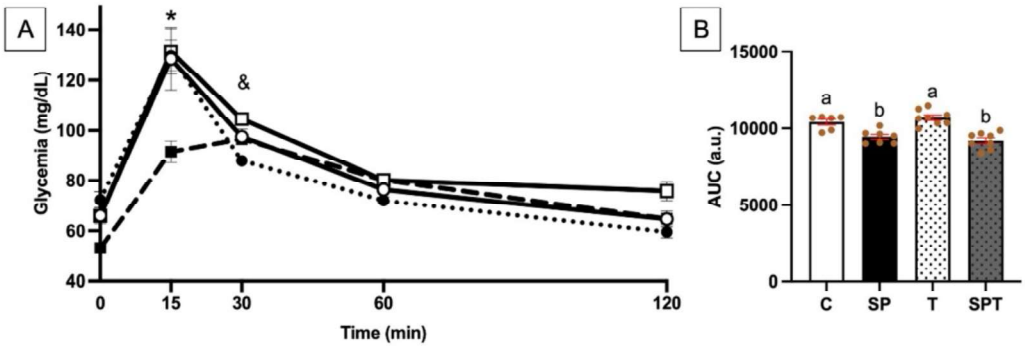


Figure 3. Glucose Tolerance Test (GTT). (**A**): the figure represents glycemia response (mg/dL) over 120 min following glucose administration in different groups; C (—○—), sedentary control group; SP (•●•), sedentary group supplemented with SLE; T (—□—), endurance training group; and SPT (—●•), endurance training group supplemented with SLE. Glycemia levels were measured at 0, 15, 30, 60, and 120 min post-glucose administration (n = 6–8). *: difference between SPT and all other groups ($p < 0.05$). &: difference between C and SP groups ($p < 0.05$). (**B**): C (□), sedentary control group; SP (■), sedentary group supplemented with SLE; T (▨), endurance training group; and SPT (▩), endurance training group supplemented with SLE. The total area under the curve (AUC) of A curves (expressed in arbitrary units, a.u.); bars represent the mean ± SEM for each group (n = 6–8), and letters (a > b) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Thirty minutes after injection, glycemia was significantly decreased in the SP group compared to the C one. In our conditions, an SLE effect was observed without any effect of endurance training. This is confirmed by the area under the curve (AUC) of the GTT, where groups receiving SLE showed a significant reduction compared to the C and T groups (Figure 3B).

3.5. Maximal Aerobic Speed

Maximal aerobic speed (MAS) was measured as a marker of physical performance and assessed on a treadmill using exhaustion criteria [43]. During the 8 weeks of supplementation, MAS was measured four times (Figure 4). Before the first block, no difference was observed between each group, as an equality of performance. The following MAS test revealed an improvement for the SPT group compared to the T group (Figure 4). This difference persisted in the subsequent two measurements until the end of the 8 weeks. Additionally, in the 3rd and 6th weeks, both the T and SPT groups improved their own MAS records. Between the 6th and 8th weeks, a stagnation in MAS was observed (Figure 4).

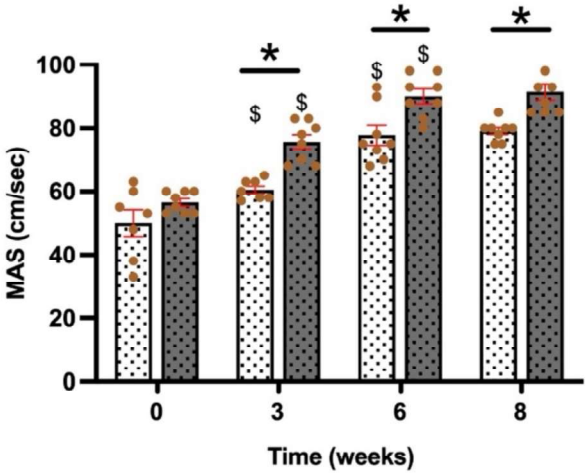


Figure 4. Maximal Aerobic Speed (MAS). The figure illustrates the changes in maximal aerobic speed (MAS, cm/s) over time (0, 3, 6, and 8 weeks) for two groups: T (▒), endurance training group; and SPT (▓), endurance training group supplemented with SLE. Bars represent the mean ± SEM for each group (n = 7–8), and brown dots represent individual values. *: indicates a significant difference between the T and SPT groups at the specified time point ($p < 0.05$). $: indicates a significant difference compared to the previous MAS measurement within the same group ($p < 0.05$).

3.6. Plasma Lipid Profile, Glucose, Insulin Concentrations, and Interleukin-6 Levels

The lipid profile was measured in plasma. No effect of SLE was observed, while during endurance training, triglyceride (TG), total cholesterol (T-Chol), HDL-Chol, and non-HDL-Chol levels decreased significantly (Table 4). The Atherogenic Index of Plasma (AIP) did not show any significant difference between the C and SP groups. However, during endurance training (C vs. T groups), AIP significantly decreased, with an even more marked reduction when SLE supplementation was added (T vs. SPT groups).

Table 4. Plasma parameters.

Plasma Parameters	C	SP	T	SPT	n
TG (mmol/L)	2.69 ± 0.39^{a}	2.34 ± 0.21^{ab}	1.60 ± 0.21^{bc}	1.11 ± 0.10^{c}	6–8
T-Chol (mmol/L)	1.62 ± 0.09^{ab}	1.76 ± 0.12^{a}	1.26 ± 0.07^{c}	1.38 ± 0.06^{bc}	5–7
HDL-Chol (mmol/L)	0.48 ± 0.03^{a}	0.52 ± 0.03^{a}	0.35 ± 0.03^{b}	0.43 ± 0.01^{ab}	5–7
Non HDL-Chol (mmol/L)	1.09 ± 0.08^{ab}	1.12 ± 0.06^{a}	0.83 ± 0.04^{c}	0.85 ± 0.05^{bc}	6–7
AIP	0.80 ± 0.05^{a}	0.80 ± 0.01^{a}	0.63 ± 0.04^{b}	0.43 ± 0.03^{c}	5–7
Glycemia (mg/dL)	60.8 ± 1.3^{a}	55.2 ± 1.6^{b}	64.8 ± 2.3^{a}	50.3 ± 1.0^{b}	5–7
Insulin (µUI/mL)	34.9 ± 3.3^{c}	53.1 ± 3.9^{b}	46.3 ± 5.7^{bc}	82.3 ± 3.5^{a}	5–6
IL-6 (pg/mL)	95.67 ± 9^{b}	102 ± 15^{b}	160 ± 18^{a}	158 ± 16^{a}	5–6

Biochemical plasma parameters of rats at the end of the study period following different conditions: C, sedentary control group; SP, sedentary group supplemented with SLE; T, endurance training group; and SPT, endurance training group supplemented with SLE. The values are expressed as mean ± SEM. The number of animals per group (n) is indicated in the last column. TG (mmol/L): triglycerides; T-Chol (mmol/L): total cholesterol; HDL-Chol (mmol/L): high-density lipoprotein cholesterol; non-HDL-Chol (mmol/L): non-high-density lipoprotein cholesterol; AIP: atherogenic index of plasma; Glycemia (mg/dL): blood glucose; Insulin (µUI/L): plasma insulin; IL-6 (pg/mL): interleukin-6. Groups with different superscript letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between them ($p < 0.05$).

On the day of euthanasia, glycemia was measured, revealing an effect of SLE supplementation. A significant decrease in fasting blood glucose was observed in the SP and SPT groups compared to the C and T groups (Table 4). Additionally, plasma insulin levels showed a significant increase between the C and SP groups, as well as between the T and SPT groups, with the SPT group displaying a significantly higher insulin level compared to the SP group (Table 4). The level of IL-6 remained unchanged with SLE supplementation but increased significantly with endurance training.

3.7. Assessment of Lipid Peroxidation in Muscle: Malondialdehyde Content

In the soleus muscle, endurance training significantly increased MDA content in the T group compared to the C group (Figure 5A). However, no significant effect of SLE supplementation was observed between the C and SP groups. When SLE was combined with endurance training (SPT), a significant decrease in MDA was observed compared to the T group (Figure 5A). In the extensor digitorum longus muscle, a significant decrease in MDA content was observed between the C and T groups, indicating a training effect (Figure 5B). SLE supplementation alone significantly decreased MDA content in the EDL, as reported in the C and SP groups (Figure 5B). Furthermore, when SLE was combined with exercise, MDA levels decreased even more, with a significant difference between the T and SPT groups (Figure 5B).

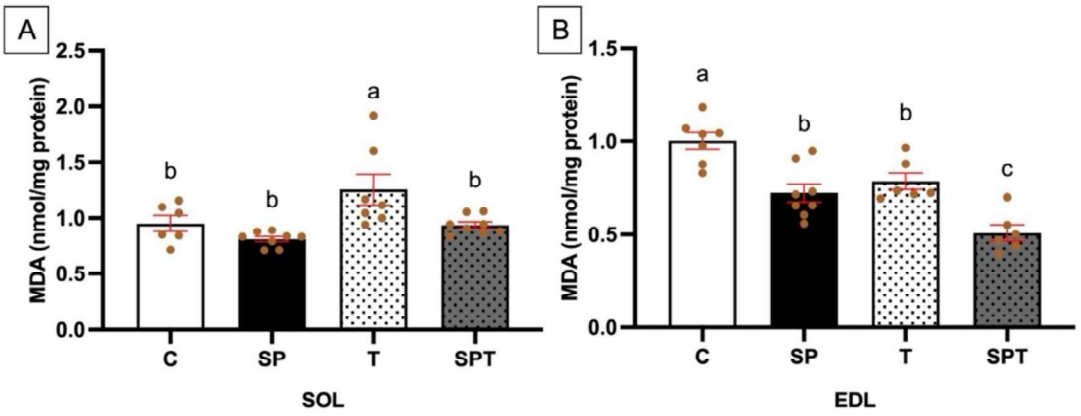


Figure 5. The figure illustrates MDA levels in SOL (**A**) and EDL (**B**) muscles. Groups: C (□), sedentary control group; SP (■), sedentary group supplemented with SLE; T (▩), endurance training group; and SPT (▩), endurance training group supplemented with SLE. Bars represent the mean ± SEM for each group (n = 5–8), and brown dots represent individual values. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

3.8. Gene Expression

3.8.1. Gene Biomarker Modulation in Soleus and EDL Muscles by *Spirulina* Liquid Extract and Exercise Training

In the SOL muscle, gene expression was measured by RT-qPCR, with relative expression for the SP, T, and SPT groups normalized to C (Figure 6A). Regarding redox status in the SOL muscle, the Nrf2 gene was significantly upregulated, while the P38 MAPK gene was downregulated in both the SP and T groups. In contrast, in the SPT group, the expression of Nrf2 and P38 MAPK remained unchanged compared to the C group, but a significant difference was observed when compared to the SP and T groups. Concerning the mitochondrial biogenesis genes, the transcript abundance of AMPKα1 and AMPKα2 increased in both the SP and T groups. A similar upregulation pattern was observed for PGC1α in the T group but not in the SP group, whereas the expression level of Nrf1 decreased in both groups. In the SPT group, these genes remained unchanged compared to the C group, but with significant differences compared to the SP and T groups. For glycogen storage, IRS1 was significantly upregulated in the SP group but not in the T and SPT group. GLUT4 expression increased significantly in both the SP and T groups compared to C; however, no change was observed in the SPT group. Notably, GLUT4 expression was significantly downregulated in the SPT group compared to the SP group. The Gys1 gene was overexpressed in both SP and T groups compared to C, whereas no change was observed in the SPT group, which differed significantly from both the SP and T groups. Regarding β-oxidation metabolism, CD36 and CPT1A genes were upregulated in the SP

group and CPT1A was overexpressed in the SPT group. Fabp4 transcript abundance was significantly reduced in both SP and T groups. Interestingly, in the SPT group, no change was observed compared to the C group; however, a significant increase was measured compared to the SP and T groups. In the EDL muscle, no difference in the expression level of Nrf2 was observed, whereas P38 MAPK was significantly upregulated in the SP, T, and SPT groups. However, the increase was not significant for the SPT group ($p = 0.07$) (Figure 6B). Mitochondria biogenesis genes, including AMPKα1, AMPKα2, and PGC1α, showed no significant variation in expression, while the Nrf1 gene was upregulated in the SPT group compared to the C and T group. Regarding glycogen storage, the expression of IRS1 significantly increased in the T group but not in the SP and SPT group. GLUT4 gene expression remained unchanged in all groups, whereas the Gys1 gene was overexpressed in the SP and SPT groups, showing a significant difference from the T group. For β-oxidation metabolism, CD36 transcript abundance exhibited no change in expression, and the CPT1A gene was downregulated in both SP, T, and SPT ($p = 0.06$) groups. The expression of Fabp4 decreased in the SP group ($p = 0.06$), but not in the T or SPT group.

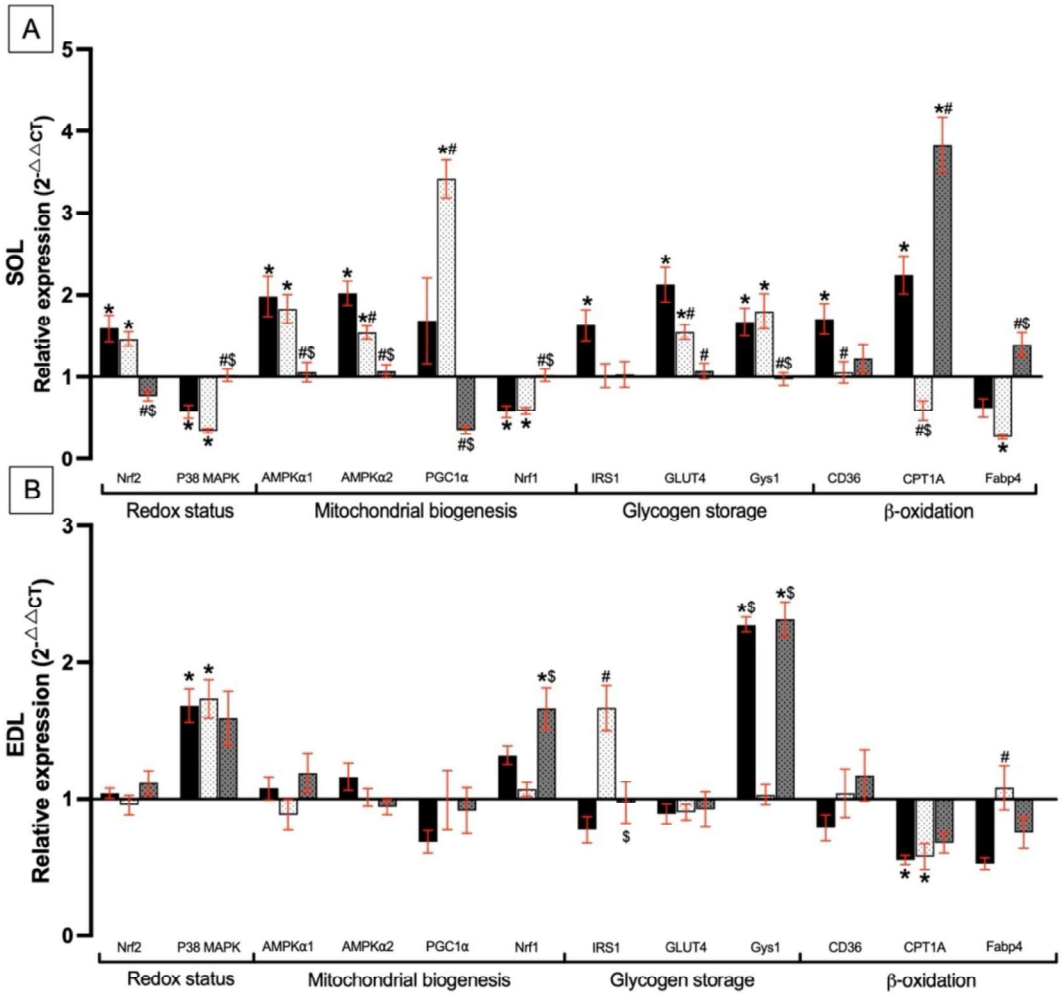


Figure 6. The effect of SLE (SP) and endurance training (T) on relative gene expression in SOL (**A**) and EDL (**B**) muscles. The figure represents relative gene expression normalized to the sedentary control group (not displayed). Bars represent the mean ± SEM for each group (n = 5–8): SP (■), sedentary group supplemented with SLE; T (▒), endurance training group; and SPT (▓), endurance training group supplemented with SLE. * indicates significant differences compared to the Control group. # indicates significant differences compared to the SP group. $ indicates significant differences compared to the T group ($p < 0.05$).

3.8.2. Effect of *Spirulina* Liquid Extract in Endurance Training Condition

Gene expression was measured by RT-qPCR in both SOL and EDL muscles, with the relative expression for the SPT group normalized to the T group. In the SOL muscle, the Nrf2 gene was highly downregulated, while the P38 MAPK gene was upregulated (Figure 7A). Concerning the mitochondrial biogenesis genes, including AMPKα1, AMPKα2, and Nrf1, no change was shown in expression levels. However, the expression level of the PGC1α gene significantly decreased. In terms of glycogen storage, there was no significant variation in the expression of IRS1, GLUT4, or Gys1. Concerning β-oxidation metabolism, CD36, CPT1A, and Fabp4 were significantly upregulated. In the extensor digitorum longus muscle, the Nrf2 gene was upregulated, whereas P38 MAPK expression was downregulated (Figure 7B). Mitochondria biogenesis genes, including AMPKα1 and Nrf1, showed significant overexpression. However, no difference was observed in the expressions of AMPKα2 and PGC1α genes. Regarding the glycogen storage gene, only GLUT4 and Gys1 genes were upregulated. Finally, concerning genes of β-oxidation metabolism, only the Fabp4 gene expression was significantly downregulated.

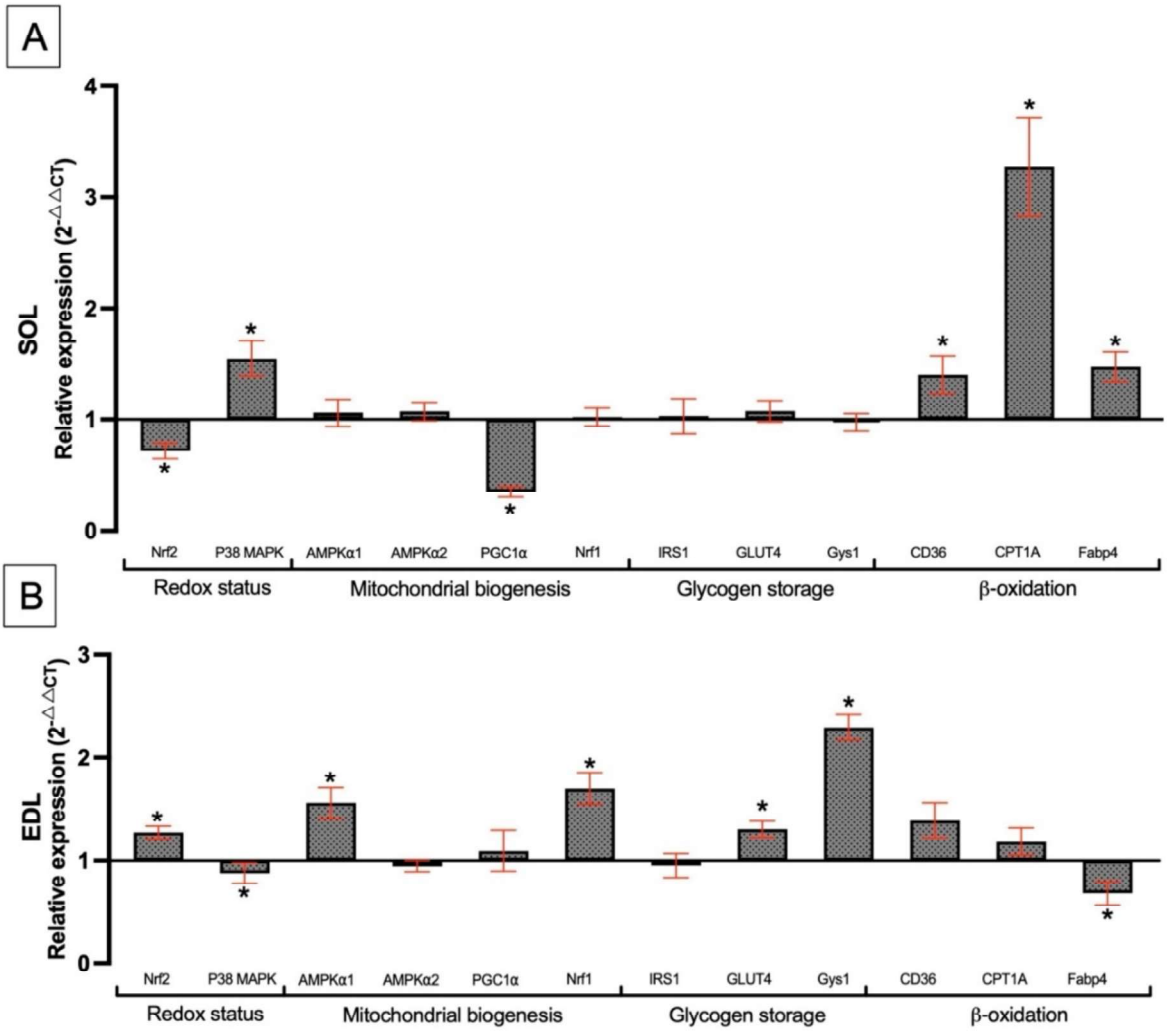


Figure 7. The effect of SLE on relative gene expression in SOL (**A**) and EDL (**B**) muscles in endurance training rats. The figure represents relative gene expression normalized to the training group (not displayed). Bars represent the mean ± SEM for each group (n = 5–8). * indicates significant differences compared to the training group ($p < 0.05$).

4. Discussion

The monitoring of water and food intake showed that endurance activity is in agreement with previous studies explaining that endurance training is shown to decrease food intake in rats [44–46]. As an explanation, endurance training could mimic leptin signaling from the hypothalamus and decrease satiety [47]. In our conditions, SLE was not reported to have any effect on food intake. This could be due to phycocyanin, which has already been reported without any effect on this parameter [48,49]. Concerning drinking water, adding SLE led to an increase in water intake at weeks 1, 2, 6, and 7 in the SP and SPT groups compared to the C and T groups (Figure 1B). Taking into account the endurance training parameter, at the beginning of the study, water intake decreased in the T group compared to the C group (Figure 1B). However, from the 6th week onwards, no difference was observed between the C and T groups. Another study involving moderate exercise training in Wistar rats has also shown a decrease in water intake during 6 weeks [46].

It is known that endurance training reduces fat mass, leading to a decrease in BW compared to sedentary groups [50]. Thus, BW decrease could be related to a decrease in fat mass. Indeed, a decrease in adipose tissues (epididymal and peri-renal) was observed in the T and SPT groups, compared with the C and SP groups. SLE did not modify BW parameters in rats, which is consistent with findings from other studies in humans supplemented during 12 weeks [51] and in hamsters following a normocaloric diet supplemented for 2 weeks [29].

The weight of SOL and EDL muscles is normalized by tibia length and BW. The tibia length normalization is often more reliable because it is independent of BW and age. Therefore, using tibia length as a reference allows for an accurate measurement of tissue mass without interference from other parameters [52–54]. Thus, when referencing tibial length, no effect of training or SLE is observed. However, when normalized to body weight, it has been shown that the SOL mass increases with endurance training, while the EDL mass remains unchanged [55]. Here, our results converge, but in the presence of SLE, no differences were observed.

We are the first study that has measured a GTT in the presence of SLE supplementation. Thus, without any reference to the response to GTT, it can be proposed that our results are due to phycocyanin (PC). Indeed, it has already been reported that supplementation with 100 mg/kg of PC during 3 weeks reduced glycemia during this test in KKAy mice [56]. Thus, SLE could improve glucose response and thus reduce glucose intolerance during diabetes.

Daily aerobic training is known to increase aerobic capacity and the development of type I muscle fibers to improve cardiovascular and respiratory efficiencies, and its better use of energy reserves such as lipids [57]. In the study by Pengam et al., the differences between moderate-intensity continuous training (MICT) and high-intensity interval training (HIIT) have been evaluated. It has been demonstrated that HIIT improved MAS performance over 6 weeks. In our study, we achieved a similar effect to the HIIT protocol by combining MICT and HIIT training [58]. Indeed, during our protocol, sprints were added to endurance activity. To our knowledge, it is the first time reported that SLE supplementation significantly increased MAS performance. However, a previous study reported the effect of *Spirulina* supplementation during 4 weeks in humans [59]. It has been demonstrated that time to fatigue after a 2 h run was significantly longer with *Spirulina* supplementation, which is similar to the MAS measurement in our present study. A decrease in TBARS content was observed, proposing that *Spirulina* enhanced lipid peroxidation, thereby improving performance. It must be noticed that *Spirulina* biomass contains numerous different molecules that could contribute to this improvement. In our case, we propose that SLE, with phycocyanin extracted from *Spirulina*, could act as an

antioxidant, enhancing lipid peroxidation and improving performance, as observed in the MAS measurements.

The plasma T-Chol is dependent on the availability of fatty acids (FA) in the liver [60]. During exercise, the TG and T-Chol concentrations decreased, likely due to an increase in fatty acid oxidation by skeletal muscle [61]. No significant effect of SLE was observed on the TG and T-Chol concentrations, which is consistent with the study of Koite et al. in humans that also did not find any effect [51]. However, the study by Kasbi-Chadli et al. in a hamster model showed a decrease in TG content in plasma, but not in T-Chol [29]. In the present study, plasma HDL-Chol levels decreased with endurance training, while moderate exercise over 4 weeks in Wistar rats was shown to significantly increase HDL-Chol, which could be correlated with LXRα gene expression in the liver [62]. Nevertheless, according to our results, SLE would be able to limit the decrease in HDL-Chol during endurance training. As in previous studies, it was reported that SLE supplementation did not affect plasma HDL-Chol [29,51]. It can be proposed that the combination of SLE with endurance training for 8 weeks is responsible for the decrease in HDL-Chol. The non-HDL-Chol content likely includes other forms of cholesterol, such as low-density lipoprotein (LDL). It is accepted that the LDL-Chol level decreases during exercise [62], and this was observed in the present study (in the C group compared to the T group). The AIP is an effective marker of cardiovascular disease risk [40]. We observed a decrease in lipid levels during exercise (in the C group compared to the T group), with a more pronounced decrease when combined with SLE (T vs. SPT groups). While no difference was observed between the C and SP groups, this could be due to the observed trend between the T and SPT groups, where TG content decreased while HDL-Chol levels increased in the SPT group. According to previous studies related to the effect of *Spirulina* on AIP decrease, we can explain that our results are due to phycocyanin present in SLE [63]. Thus, our results show a cumulative effect of SLE and endurance training to prevent cardiovascular diseases.

On the other hand, the decrease in fasting blood glucose measured in the SLE groups is likely due to the higher insulin levels in plasma, as has already been proposed about the role of phycocyanin in the decrease in fasting blood glucose and the increase in plasma insulin levels [64]. Other studies proposed that phycocyanin (PC) can improve pancreatic beta-cell function by activating the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) pathways, thus protecting methylglyoxal, a glycation agent linked to cell damage in diabetes [65]. Thus, PC could have protective effects against diabetes. Our data showed that SLE increased plasma insulin and that insulin sensitivity was improved with better glycemic regulation, as observed with previous GTT results (Figure 3A,B). This could improve physical capacity, as recently described, with PC supplementation [66]. Moreover, recent studies have demonstrated that increased insulin sensitivity was associated with better physical performance, due to an efficient use of glucose as an energy source. This parameter can also positively influence post-exercise recovery, reducing the risk of fatigue and injury [67]. Thus, in the present study, the improvement in MAS with SP could be explained by an increased insulin sensitivity.

We have measured that IL-6 increased with endurance training. This may be due to muscle contractions, which release IL-6 into the bloodstream. The increased IL-6 level stimulated lipolysis in adipose tissue, promoted anti-inflammatory macrophage activity, and increased insulin levels [68]. Moreover, circulating IL-6 plays a role in glucose oxidation and enhances recovery after exercise, including the rebuilding of contractile tissue [69].

The MDA is a marker of lipid peroxidation and is used to predict oxidative stress levels [70]. The interest in studying the SOL muscle is due to its high composition of slow-twitch fibers, while the EDL is composed mainly of fast-twitch fibers [71,72]. Both muscles are frequently used in running training studies [73]. It has been reported in Wistar-

Kyoto rats that endurance training increases MDA levels in the SOL muscle due to the relationship between aerobic exercise, increased mitochondrial electron transport, and the resulting superoxide radical leakage [74,75]. This was also observed in the present study. The SLE supplementation in the SPT group significantly decreased MDA content in the SOL muscle during training, indicating a protective effect against oxidative stress. A recent study demonstrated that PC supplementation increased antioxidant enzyme activity and decreased oxidative stress in the quadriceps muscles of Sprague Dawley rats [66]. During this study, the authors used the swim test performance considered similar to our MAS measurements. They observed the beneficial effects of PC. In the present study, the significant decrease in MDA observed in the SPT group in the SOL muscle could similarly contribute to improved performance—as seen in the MAS measurements—and this could be explained by the content of PC in the SLE.

In the EDL muscle, it has been suggested that MDA levels decrease during 12 weeks of endurance exercise because glutathione peroxidase may be overexpressed, reducing oxidative stress and preventing lipid peroxidation in fast-twitch fibers [76]. Excessive oxidative stress can impair muscle performance by reducing calcium sensitivity and damaging muscle proteins [77]. The decrease in MDA content observed in our training groups suggested an adaptive response to endurance training, which helps maintain muscle function [13]. In the SP group, MDA content also decreased significantly, suggesting that SLE may have a similar antioxidant effect to exercise. The combined effect of SLE and exercise further decreased MDA content in the EDL muscle, which may have contributed to the improved MAS performance. These results in both the SOL and EDL muscles suggest that SLE has an antioxidant effect when combined with exercise.

4.1. Redox Status Genes in the Soleus Muscle

Endurance training is known to produce oxidative stress due to significant mitochondrial demand [78]. This oxidative stress can lead to low-level systemic inflammation, whereas exercise has been shown to exert an anti-inflammatory effect [79]. The Nrf2 factor negatively regulates inflammation during exercise and regulates antioxidant enzymes [80]. In this work, it has been proposed that Nrf2's protective role is crucial for maintaining muscle performance and mitigating the long-term effects of exercise-induced stress (Figure 6A). Consequently, the increase in Nrf2 gene expression observed during endurance training in the SOL could counteract the elevated production of reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial oxidative capacity. Furthermore, in the SP group, Nrf2 gene expression increased as it did with exercise. This result was observed in other studies that supplemented with PC, suggesting that PC acts as an activator of Nrf2 pathways [26,66]. Interestingly, the combination group (SPT) did not show any difference compared to group C. This could be explained by an improved recovery with better regulation of oxidative status due to the combination of SLE and endurance training. The P38 MAPK is a redox-sensitive protein, as described by Vichaiwong et al., and its gene expression decreased in both groups in this study (SP and T groups) [81]. This effect is likely due to the overexpression of the Nrf2 gene, which reduces ROS levels, as demonstrated in liver studies [82]. However, in the SPT group, P38 MAPK expression remained unchanged, which is consistent with the fact that there are low levels of oxidative molecules, insufficient to induce Nrf2 expression. Thus, these results for the SPT group can be related to the obtained MDA content, which decreased in the SPT group compared to the T group (Figure 5A). Finally, these improvements in oxidative status could be related to better MAS measurements, as previously observed.

4.2. Mitochondrial Biogenesis Genes in the Soleus Muscle

AMPK exists in two isoforms: AMPKα1 and AMPKα2, and both play a role in muscle mass pathways, muscle regeneration, and energy management during and after a physical exercise [83,84]. AMPK activation following endurance training indicated muscle adaptation with glycogen synthesis or storage [83] and with mitochondrial biogenesis [80]. This is supported by the significant upregulation of GLUT4 and PGC1α gene expressions in the T group. However, the AMPKα1 and AMPKα2 genes were upregulated in the SLE group without endurance training. Thus, the SLE could be able to stimulate this AMPK pathway and have a positive effect on AMPK activation as endurance training. PGC1α is considered a key regulator of mitochondrial production and function in muscle [85,86]. Another important regulator is Nrf1, playing a role in mitochondrial transcriptional activity [87]. Both can negatively regulate each other to maintain mitochondrial homeostasis [87]. In our study, the Nrf1 expression downregulation in T and SPT groups could be explained by this regulatory interaction with PGC1α [87]. Results reported in Figure 6A showed that SLE induced a gene regulation related to mitochondrial biogenesis similar to during endurance training (T). Interestingly, when SLE was combined with endurance training (SPT group), the expression of AMPKα1, AMPKα2, PGC1α, and Nrf1 genes remained unchanged. This is likely due to the low levels of oxidative molecules and the overall muscle recovery. Indeed, other studies on human muscle and acute exercise have reported that mRNA levels of these genes increase after exercise and return to basal levels during recovery. [88,89]. These data suggest that physical capacity could be improved with SLE supplementation without the need for training, as we observed similar effects to training alone. The combination of SLE supplementation and training seems to enhance recovery speed and muscle adaptation in response to our training protocol. Finally, this could explain the improvement in the MAS test observed in the SPT group.

4.3. Glycogen Metabolism and Storage Genes in the Soleus Muscle

The SP group exhibited a significant IRS1 upregulation, likely due to elevated circulating insulin levels, as it has already been reported (Table 4). GLUT4 and Gys1 gene expressions upregulated with training (T group), as already demonstrated in human studies [90]. Additionally, research on Gys1 knockout mice has observed an 85% reduction in Gys1 mRNA and a 70% reduction in glycogen protein content in the SOL due to the inhibition of the Gys1 gene [91]. Thus, it can be considered that the upregulation of GLUT4 and Gys1 genes in response to training (Figure 6A) could reflect a restoration of glycogen storage for subsequent sessions. In the SP group, the same upregulation was noticed, suggesting a potential protective role against insulin resistance as it has already been reported [92]. Thus, we hypothesize that SLE could prevent insulin resistance and enhance muscle performance by improving glycogen storage regulation. Interestingly, the combination of both conditions (SLE and endurance training) did not induce any change in the relative expression of glycogen-related genes observed compared to the control group. These results could also explain an overall adaptation of glycogen metabolism and storage following exercise.

4.4. Fatty Acid Metabolism Genes in the Soleus Muscle

Regarding β-oxidation, the SP and SPT groups exhibited significant increases in CPT1A gene expression (Figure 6A). Increased fatty acid oxidation capacity through CPT1 has been shown to contribute to muscle plasticity and remodeling [93]. This could also contribute to the enhancement of physical performance observed in the SPT group following endurance training. In our study, Fabp4 gene expression was downregulated in the T group. This gene is recognized as a marker of mature adipocytes in muscle and is implicated in intramuscular

adipose tissue (IMAT) development leading to muscle atrophy and strength loss [94,95]. Despite an increase in the expression of fatty acid transport genes like the CD36 gene in the SP group, the elevated expression of CPT1A in this group may lead to mitochondrial uncoupling as previously reported [96].

4.5. Redox Status Genes in the EDL Muscle

The level of Nrf2 expression did not change in the SP, T, and SPT groups (Figure 6B). This may be due to the low mitochondrial content in this muscle, which may not require the same level of regulation for counteracting ROS overproduction [97]. A high expression of the P38 MAPK gene was observed in the SP, T, and SPT (p = 0.07) groups, with an upregulation of Gys1 expression in the latter. In the EDL muscle, the P38 MAPK gene cannot be considered a marker of oxidative stress as it is in the SOL muscle, while it is a marker for glucose uptake independently of insulin regulation [98,99]. This suggested that SLE may enhance glycogen storage independently of insulin in the EDL muscle, similar to the effect of exercise training.

4.6. Mitochondrial Biogenesis Pathways Genes in the EDL Muscle

Regarding gene markers of mitochondrial biogenesis, no effect was observed in the T group (Figure 6B). This is probably due to the type of muscle fibers mainly composed of type II fast fibers in which glycogen metabolism is dominant [100]. However, in the SPT group, we observed an overexpression of the Nrf1 gene. This could be explained by the switch of glycolytic fibers to oxidative fibers, given that Nrf1 plays a role in mitochondrial biogenesis [80,101]. Thus, SLE supplementation combined with exercise training could improve endurance performance through the remodeling of fiber energy metabolism. Moreover, SLE alone (SP group) tended to increase Nrf1 mRNA, while the endurance training group (T) without SLE showed no change in expression, suggesting that SLE may act as a regulator of fiber-type switching.

4.7. Fatty Acids and Glycogen Metabolism Genes in the EDL Muscle

Markers for fatty acid transport remained unchanged in the SP, T, and SPT groups, while CPT1A gene expression decreased (Figure 6B). However, Gys1 mRNA was upregulated in both SLE groups. According to the Randle cycle, elevated glycogen levels can negatively regulate fatty acid oxidation [102]. Thus, in our study, this mechanism could be observed in both SLE groups. On the other hand, CPT1A gene expression also decreased in the training group, with an overexpression of IRS1 mRNA, which may also reduce the regulation of fatty acid metabolism. Related to the decreased Fabp4 gene expression in the SP group (p = 0.06) (Figure 6B), SLE consumption could prevent the development of IMAT as proposed for the SOL muscle.

4.8. Genes Associated with the Effects of SLE Supplementation Under Endurance Training Conditions in the Soleus Muscle

We aimed to observe the differences between the T and SPT groups through various relative gene expressions. These results would explain how MAS performance increased in the SPT group compared to the T group. Here, the Nrf2 gene expression was downregulated, whereas the data reported in Figure 6A showed that this expression was upregulated in the SP group. Thus, we expected that SLE, in combination with endurance training, would upregulate the expression of these genes. Conversely, the P38 MAPK gene expression increased, suggesting a higher presence of ROS in the SPT group compared to the T group (Figure 7A). In addition, PGC1α gene expression significantly decreased, which may correspond to a reduction in mitochondrial adaptation [86]. The difference in levels of expression between Nrf2, P38 MAPK, and PGC1α genes, suggests that SLE, when combined

with endurance training, may alter mitochondrial adaptation. This observation could be similar to the effects of antioxidant supplementation with vitamins C or E [17]. Thus, SLE may act as a primary antioxidant in the SOL muscle during endurance conditions. As an explanation, the decrease in the expression of PGC1α could be balanced by the Nrf2 gene, which decreased and generated an increase in ROS concentration as indicated by the high expression of P38 MAPK [103]. No difference in glycogen pathway storage was observed between the different groups; however, there was a significant upregulation in the expression of β-oxidation genes such as CD36 and CPT1A. This improvement was also observed with SLE supplementation (Figure 6A). The effect is enhanced by the combination of SLE supplementation and endurance training (Figure 7A). Physical exercise increases the transport of fatty acids into muscle cells, and CD36 plays a role in fatty acids substrate selection to enhance exercise performance [104]. In Figure 6A, it has been reported that expression of CD36 was unchanged in the T group. However, with SLE supplementation and endurance training (SPT), an upregulation of this gene expression was observed (Figure 7A). This could lead to an improvement in fatty acid regulation with a better efficiency for fat oxidation. Moreover, the CPT1A gene was overexpressed, as previously demonstrated in rats, where CPT1A expression is regulated by thyroid and pancreatic hormones, as well as long-chain fatty acids [105]. It has been reported that an increase in CPT1 improves fatty acid oxidation, leading to better physical performance [106]. Previously, we have reported that CPT1A was upregulated in the SP group (Figure 6A), while in the T group, CPT1A was downregulated. We also observed this upper expression in the SPT group compared with the T group (Figure 7A). Thus, it can be hypothesized that SLE had a stimulating effect on the CPT1A gene pathway. These results could explain the improvements observed in the incremental test to exhaustion (MAS) in the SPT group compared to the T group. Moreover, SLE supplementation could lead to better regulation of fat utilization with a protective role during metabolic syndrome such as obesity or diabetes. Additionally, Fabp4 expression was upregulated in the SPT group, likely due to fatty acid storage for use as an energy substrate [107]. This explanation can be related to the downregulated Fabp4 expression observed with SLE supplementation (Figure 6A).

4.9. Genes Associated with the Effects of SLE Supplementation Under Endurance Training Conditions in the EDL Muscle

We have reported that an increase in plasma IL-6 levels induced by endurance training may be related to the increase in GLUT4 and Gys1 expression genes [108]. Previous results in the EDL muscle showed that Gys1 expression was upregulated with SLE supplementation and without endurance training (Figure 6B). Here, we also observed an increase in Gys1 expression with both endurance training and SLE supplementation (Figure 7B). This could be a critical factor explaining the increase in physical capacity during MAS tests [109]. Additionally, the overexpression of AMPKα1 and Nrf1 genes could contribute to improved energy metabolism adaptations, leading to better performance [110,111]. Contrary to the result obtained in the SOL muscle, Nrf2 gene expression increased with SLE and endurance training in the EDL muscle, while P38 MAPK gene expression decreased. As previously suggested, it can be confirmed that SLE has different effects according to muscle fiber type.

5. Conclusions

This study conducted on male Wistar rats supports the initial hypothesis that SLE supplementation can enhance performance and promote molecular adaptations in the SOL and EDL muscles during endurance training. The antioxidant effects of phycocyanin in SLE appear to improve exercise performance, likely through remodeling in energy metabolism. However, the complex interactions between SLE supplementation and training-induced

adaptations, particularly regarding mitochondrial biogenesis, justify further investigations to fully understand the implications for athletic performance and muscle health. Although conducted on male Wistar rats, our results highlight the potential of SLE as a functional food supplement that could be used for athletes with a view to training outcome optimization. By modulating oxidative stress levels, SLE could serve as an effective strategy for enhancing recovery and performance. Future research should explore the long-term effects of SLE supplementation, and its impact on different exercise modalities.

Author Contributions: Conceptualization, J.V., C.L. and L.U.; investigation, J.V., M.C., I.M., R.R., J.H. and C.M.; methodology, J.V., C.L. and L.U.; project administration, L.U.; resources, J.V., C.L. and L.U.; supervision, C.L. and L.U.; validation, C.L. and L.U.; visualization, J.V., C.L., O.L. and L.U.; writing—original draft, J.V., C.L. and L.U.; writing—review & editing, J.V., C.L., J.H., C.M., O.L. and L.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Jordi Vignaud was a recipient of a PhD fellowship from the Collectivités Locales Mayennaises.

Institutional Review Board Statement: Ethical approval for the study was granted by the Ethics Committee 006 of the Pays de la Loire (French Ministry of National Education, Higher Education and Research, approval number: APAFIS #40394-202301111324826 v6, approval date 23 February 2023).

Data Availability Statement: The original data presented in the study are included in the article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Conflicts of Interest: Author Olivier Lépine is general manager of the company AlgoSource. The remaining 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.

References

1. Adams, V.; Linke, A. Impact of Exercise Training on Cardiovascular Disease and Risk. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Mol. Basis Dis.* **2019**, *1865*, 728–734. [CrossRef] [PubMed]
2. Petridou, A.; Siopi, A.; Mougios, V. Exercise in the Management of Obesity. *Metabolism* **2019**, *92*, 163–169. [CrossRef]
3. Kawamura, T.; Muraoka, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants* **2018**, *7*, 119. [CrossRef]
4. Spriet, L.L. Performance Nutrition for Athletes. *Sports Med.* **2019**, *49*, 1–2. [CrossRef] [PubMed]
5. Alfieri, A.; D'Angelo, S.; Mazzeo, F. Role of Nutritional Supplements in Sport, Exercise and Health. *Nutrients* **2023**, *15*, 4429. [CrossRef] [PubMed]
6. Ranchordas, M.K.; Rogerson, D.; Soltani, H.; Costello, J.T. Antioxidants for Preventing and Reducing Muscle Soreness after Exercise. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, *2017*, CD009789. [CrossRef] [PubMed]
7. Knapik, J.J.; Steelman, R.A.; Hoedebecke, S.S.; Austin, K.G.; Farina, E.K.; Lieberman, H.R. Prevalence of Dietary Supplement Use by Athletes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med.* **2016**, *46*, 103–123. [CrossRef]
8. Vermot, A.; Petit-Härtlein, I.; Smith, S.M.E.; Fieschi, F. NADPH Oxidases (NOX): An Overview from Discovery, Molecular Mechanisms to Physiology and Pathology. *Antioxidants* **2021**, *10*, 890. [CrossRef] [PubMed]
9. Paschalis, V.; Theodorou, A.A.; Kyparos, A.; Dipla, K.; Zafeiridis, A.; Panayiotou, G.; Vrabas, I.S.; Nikolaidis, M.G. Low Vitamin C Values Are Linked with Decreased Physical Performance and Increased Oxidative Stress: Reversal by Vitamin C Supplementation. *Eur. J. Nutr.* **2016**, *55*, 45–53. [CrossRef] [PubMed]
10. Reid, M.B. Redox Interventions to Increase Exercise Performance. *J. Physiol.* **2016**, *594*, 5125–5133. [CrossRef]
11. Powers, S.K.; Smuder, A.J.; Criswell, D.S. Mechanistic Links between Oxidative Stress and Disuse Muscle Atrophy. *Antioxid. Redox Signal.* **2011**, *15*, 2519–2528. [CrossRef] [PubMed]
12. Powers, S.K.; Morton, A.B.; Ahn, B.; Smuder, A.J. Redox Control of Skeletal Muscle Atrophy. *Free. Radic. Biol. Med.* **2016**, *98*, 208–217. [CrossRef] [PubMed]
13. Powers, S.K.; Deminice, R.; Ozdemir, M.; Yoshihara, T.; Bomkamp, M.P.; Hyatt, H. Exercise-Induced Oxidative Stress: Friend or Foe? *J. Sport Health Sci.* **2020**, *9*, 415–425. [CrossRef]
14. Pilegaard, H.; Saltin, B.; Neufer, P.D. Exercise Induces Transient Transcriptional Activation of the PGC-1alpha Gene in Human Skeletal Muscle. *J. Physiol.* **2003**, *546*, 851–858. [CrossRef] [PubMed]
15. Merry, T.L.; Ristow, M. Do Antioxidant Supplements Interfere with Skeletal Muscle Adaptation to Exercise Training? *J. Physiol.* **2016**, *594*, 5135–5147. [CrossRef] [PubMed]

16. Arc-Chagnaud, C.; Py, G.; Fovet, T.; Roumanille, R.; Demangel, R.; Pagano, A.F.; Delobel, P.; Blanc, S.; Jasmin, B.J.; Blottner, D.; et al. Evaluation of an Antioxidant and Anti-Inflammatory Cocktail Against Human Hypoactivity-Induced Skeletal Muscle Deconditioning. *Front. Physiol.* **2020**, *11*, 71. [CrossRef]
17. Gomez-Cabrera, M.C.; Salvador-Pascual, A.; Cabo, H.; Ferrando, B.; Viña, J. Redox Modulation of Mitochondriogenesis in Exercise. Does Antioxidant Supplementation Blunt the Benefits of Exercise Training? *Free Radic. Biol. Med.* **2015**, *86*, 37–46. [CrossRef]
18. Dutra, M.T.; Alex, S.; Mota, M.R.; Sales, N.B.; Brown, L.E.; Bottaro, M. Effect of Strength Training Combined with Antioxidant Supplementation on Muscular Performance. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2018**, *43*, 775–781. [CrossRef] [PubMed]
19. Dutra, M.T.; Martins, W.R.; Ribeiro, A.L.A.; Bottaro, M. The Effects of Strength Training Combined with Vitamin C and E Supplementation on Skeletal Muscle Mass and Strength: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Sports Med.* **2020**, *2020*, 3505209. [CrossRef]
20. Fovet, T.; Guilhot, C.; Delobel, P.; Chopard, A.; Py, G.; Brioche, T. Ergothioneine Improves Aerobic Performance Without Any Negative Effect on Early Muscle Recovery Signaling in Response to Acute Exercise. *Front. Physiol.* **2022**, *13*, 834597. [CrossRef] [PubMed]
21. Wu, R.-E.; Huang, W.-C.; Liao, C.-C.; Chang, Y.-K.; Kan, N.-W.; Huang, C.-C. Resveratrol Protects against Physical Fatigue and Improves Exercise Performance in Mice. *Molecules* **2013**, *18*, 4689–4702. [CrossRef]
22. Baltaci, S.B.; Mogulkoc, R.; Baltaci, A.K. Resveratrol and Exercise. *Biomed. Rep.* **2016**, *5*, 525. [CrossRef] [PubMed]
23. Vignaud, J.; Loiseau, C.; Hérault, J.; Mayer, C.; Côme, M.; Martin, I.; Ulmann, L. Microalgae Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions and Skeletal Muscular Oxidative Stress. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1050. [CrossRef]
24. Eriksen, N. Research Trends in the Dominating Microalgal Pigments, β-Carotene, Astaxanthin, and Phycocyanin Used in Feed, in Foods, and in Health Applications. *J. Nutr. Food Sci.* **2016**, *6*, 507. [CrossRef]
25. Eisenberg, I.; Harris, D.; Levi-Kalisman, Y.; Yochelis, S.; Shemesh, A.; Ben-Nissan, G.; Sharon, M.; Raviv, U.; Adir, N.; Keren, N.; et al. Concentration-Based Self-Assembly of Phycocyanin. *Photosynth. Res.* **2017**, *134*, 39–49. [CrossRef] [PubMed]
26. Liu, R.; Qin, S.; Li, W. Phycocyanin: Anti-Inflammatory Effect and Mechanism. *Biomed. Pharmacother.* **2022**, *153*, 113362. [CrossRef]
27. Kim, K.M.; Lee, J.Y.; Im, A.-R.; Chae, S. Phycocyanin Protects Against UVB-Induced Apoptosis Through the PKC α/βII-Nrf-2/HO-1 Dependent Pathway in Human Primary Skin Cells. *Molecules* **2018**, *23*, 478. [CrossRef] [PubMed]
28. Alzokaky, A.A.; Abdelkader, E.M.; El-Dessouki, A.M.; Khaleel, S.A.; Raslan, N.A. C-Phycocyanin Protects against Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Role of HMGB1/NLRP3/NF-κB Pathway. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2020**, *127*, 265–277. [CrossRef] [PubMed]
29. Kasbi-Chadli, F.; Coué, M.; Aguesse, A.; Grit, I.; Souque, T.; Ferchaud-Roucher, V.; Ouguerram, K. Spirulina Liquid Extract Prevents Metabolic Disturbances and Improves Liver Sphingolipids Profile in Hamster Fed a High-Fat Diet. *Eur. J. Nutr.* **2021**, *60*, 4483–4494. [CrossRef] [PubMed]
30. Coué, M.; Tesse, A.; Falewée, J.; Aguesse, A.; Croyal, M.; Fizanne, L.; Chaigneau, J.; Boursier, J.; Ouguerram, K. Spirulina Liquid Extract Protects against Fibrosis Related to Non-Alcoholic Steatohepatitis and Increases Ursodeoxycholic Acid. *Nutrients* **2019**, *11*, 194. [CrossRef] [PubMed]
31. Dupuis, C.; Berthon, J.Y.; Larue, J.; Rougé, S.; Filaire, M.; Filaire, E. Effects of 6 Weeks of Betaine or C-Phycocyanin Supplementation Associated or Not with Wheel Running on Redox Status. *Sci. Sports* **2018**, *33*, 47–55. [CrossRef]
32. Fadaei Chafy, M.R.; Bagherpour Tabalvandani, M.M.; Elmieh, A.; Arabzadeh, E. Determining the Range of Aerobic Exercise on a Treadmill for Male Wistar Rats at Different Ages: A Pilot Study. *J. Exerc. Organ. Cross Talk* **2022**, *2*, 96–100. [CrossRef]
33. Cardenia, V.; Rodriguez-Estrada, M.T.; Lorenzini, A.; Bandini, E.; Angeloni, C.; Hrelia, S.; Malaguti, M. Effect of Broccoli Extract Enriched Diet on Liver Cholesterol Oxidation in Rats Subjected to Exhaustive Exercise. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2017**, *169*, 137–144. [CrossRef] [PubMed]
34. Kryściak, K.; Majerczak, J.; Kryściak, J.; Łochyński, D.; Kaczmarek, D.; Drzymała-Celichowska, H.; Krutki, P.; Gawedzka, A.; Guzik, M.; Korostynski, M.; et al. Adaptation of motor unit contractile properties in rat medial gastrocnemius to treadmill endurance training: Relationship to muscle mitochondrial biogenesis. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0195704. [CrossRef] [PubMed]
35. Ferreira, J.C.B.; Rolim, N.P.L.; Bartholomeu, J.B.; Gobatto, C.A.; Kokubun, E.; Brum, P.C. Maximal Lactate Steady State in Running Mice: Effect of Exercise Training. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2007**, *34*, 760–765. [CrossRef] [PubMed]
36. De Carvalho, C.D.; Filho, C.K.; da Rocha, A.D.; Silva, A.S.R.; Papoti, M. Glycogen Kinetics of Wistar Rats: Different Exercise Intensities and Tissue Analyzed Influence. *Int. J. Exerc. Sci.* **2022**, *15*, 289–299.
37. Dong, G.J.; Lv, C.X.; Li, K.F. The Changes of Ultrastructure and Proteome Induced by Repeated Eccentric Exercise on of Rat Skeletal Muscle. *Appl. Mech. Mater.* **2014**, *472*, 792–800. [CrossRef]
38. Silva, E.; Maldonado, I.R.S.C.; Matta, S.L.P.; Maia, G.C.; Bozi, L.H.M.; Silva, K.A.; Castro, C.A.; Natali, A.J. Treinamento em natação com baixa intensidade não protege músculo esquelético contra lesões induzidas por exercício exaustivo em ratos. *Rev. Bras. Med. Esporte* **2011**, *17*, 207–211. [CrossRef]

39. Carr, S.S.; Hooper, A.J.; Sullivan, D.R.; Burnett, J.R. Non-HDL-Cholesterol and Apolipoprotein B Compared with LDL-Cholesterol in Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Assessment. *Pathology* **2019**, *51*, 148–154. [CrossRef] [PubMed]
40. Askin, L.; Tanriverdi, O. Is the Atherogenic Index. of Plasma (AIP) a Cardiovascular Disease Marker? *Cor Vasa* **2023**, *65*, 100–103. [CrossRef]
41. Winterbourn, C.C.; Gutteridge, J.M.C.; Halliwell, B. Doxorubicin-Dependent Lipid Peroxidation at Low Partial Pressures of O_2. *J. Free Radic. Biol. Med.* **1985**, *1*, 43–49. [CrossRef] [PubMed]
42. Livak, K.J.; Schmittgen, T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **2001**, *25*, 402–408. [CrossRef]
43. Billat, L.V.; Koralsztein, J.P. Significance of the Velocity at VO_{2max} and Time to Exhaustion at This Velocity. *Sports Med.* **1996**, *22*, 90–108. [CrossRef] [PubMed]
44. Ebal, E.; Cavalie, H.; Michaux, O.; Lac, G. Effect of a Moderate Exercise on the Regulatory Hormones of Food Intake in Rats. *Appetite* **2007**, *49*, 521–524. [CrossRef] [PubMed]
45. Elj, N.E.; Lac, G.; Tabka, Z.; Gharbi, N.; Fezaa, S.E. Effect of Physical Exercise on Reducing Food Intake and Weight Gain. *Procedia Soc. Behav. Sci.* **2011**, *30*, 2027–2031. [CrossRef]
46. Dupas, J.; Feray, A.; Guernec, A.; Pengam, M.; Inizan, M.; Guerrero, F.; Mansourati, J.; Goanvec, C. Effect of Personalized Moderate Exercise Training on Wistar Rats Fed with a Fructose Enriched Water. *Nutr. Metab.* **2018**, *15*, 69. [CrossRef]
47. Zhao, J.; Tian, Y.; Xu, J.; Liu, D.; Wang, X.; Zhao, B. Endurance Exercise Is a Leptin Signaling Mimetic in Hypothalamus of Wistar Rats. *Lipids Health Dis.* **2011**, *10*, 225. [CrossRef] [PubMed]
48. Naidu, K.A.; Sarada, R.; Manoj, G.; Khan, M.Y.; Swamy, M.M.; Viswanatha, S.; Murthy, K.N.; Ravishankar, G.A.; Srinivas, L. Toxicity Assessment of Phycocyanin—A Blue Colorant from Blue Green Alga Spirulina Platensis. *Food Biotechnol.* **1999**, *13*, 51–66. [CrossRef]
49. Ichimura, M.; Kato, S.; Tsuneyama, K.; Matsutake, S.; Kamogawa, M.; Hirao, E.; Miyata, A.; Mori, S.; Yamaguchi, N.; Suruga, K.; et al. Phycocyanin Prevents Hypertension and Low Serum Adiponectin Level in a Rat Model of Metabolic Syndrome. *Nutr. Res.* **2013**, *33*, 397–405. [CrossRef]
50. Haghshenas, R.; Jafari, M.; Ravasi, A.; Kordi, M.; Gilani, N.; Shariatzadeh, M.; Hedayati, M.; Rahimi, M. The Effect of Eight Weeks Endurance Training and High-Fat Diet on Appetite-Regulating Hormones in Rat Plasma. *Iran. J. Basic Med. Sci.* **2014**, *17*, 237–243.
51. Koite, N.L.N.; Sanogo, N.I.; Lépine, O.; Bard, J.-M.; Ouguerram, K. Antioxidant Efficacy of a Spirulina Liquid Extract on Oxidative Stress Status and Metabolic Disturbances in Subjects with Metabolic Syndrome. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 441. [CrossRef]
52. Atum, A.L.B.; de Matos, L.P.; de Jesus, B.C.; Nasuk, G.R.; da Silva, G.A.; Gomes, C.P.; Pesquero, J.B.; Zamuner, S.R.; Silva Júnior, J.A. Impact of Prenatal Alcohol Exposure on the Development and Myocardium of Adult Mice: Morphometric Changes, Transcriptional Modulation of Genes Related to Cardiac Dysfunction, and Antioxidant Cardioprotection. *Antioxidants* **2023**, *12*, 256. [CrossRef] [PubMed]
53. Padilla, J.; Jenkins, N.T.; Vieira-Potter, V.J.; Laughlin, M.H. Divergent Phenotype of Rat Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2013**, *304*, R543–R552. [CrossRef] [PubMed]
54. Yin, F.C.; Spurgeon, H.A.; Rakusan, K.; Weisfeldt, M.L.; Lakatta, E.G. Use of Tibial Length to Quantify Cardiac Hypertrophy: Application in the Aging Rat. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **1982**, *243*, H941–H947. [CrossRef] [PubMed]
55. Plant, D.R.; Gregorevic, P.; Warmington, S.A.; Williams, D.A.; Lynch, G.S. Endurance Training Adaptations Modulate the Redox–Force Relationship of Rat Isolated Slow-Twitch Skeletal Muscles. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2003**, *30*, 77–81. [CrossRef] [PubMed]
56. Ou, Y.; Lin, L.; Yang, X.; Pan, Q.; Cheng, X. Antidiabetic Potential of Phycocyanin: Effects on KKAy Mice. *Pharm. Biol.* **2013**, *51*, 539–544. [CrossRef] [PubMed]
57. Holloszy, J.O.; Booth, F.W. Biochemical Adaptations to Endurance Exercise in Muscle. *Annu. Rev. Physiol.* **1976**, *38*, 273–291. [CrossRef] [PubMed]
58. Pengam, M.; Goanvec, C.; Moisan, C.; Simon, B.; Albacète, G.; Féray, A.; Guernec, A.; Amérand, A. Moderate Intensity Continuous versus High Intensity Interval Training: Metabolic Responses of Slow and Fast Skeletal Muscles in Rat. *PLoS ONE* **2023**, *18*, e0292225. [CrossRef] [PubMed]
59. Kalafati, M.; Jamurtas, A.Z.; Nikolaidis, M.G.; Paschalis, V.; Theodorou, A.A.; Sakellariou, G.K.; Koutedakis, Y.; Kouretas, D. Ergogenic and Antioxidant Effects of Spirulina Supplementation in Humans. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2010**, *42*, 142–151. [CrossRef]
60. Dietschy, J.M.; Wilson, J.D. Regulation of Cholesterol Metabolism. *N. Engl. J. Med.* **1970**, *282*, 1128–1138. [CrossRef] [PubMed]
61. Pels, A.E.; White, T.P.; Block, W.D. Effects of Exercise Training on Plasma Lipids and Lipoproteins in Rats. *J. Appl. Physiol.* **1985**, *58*, 612–618. [CrossRef]
62. Kazeminasab, F.; Marandi, M.; Ghaedi, K.; Esfarjani, F.; Moshtaghian, J. Effects of A 4-Week Aerobic Exercise on Lipid Profile and Expression of LXRα in Rat Liver. *Cell J.* **2017**, *19*, 45–49. [PubMed]
63. Muga, M.A.; Chao, J.C.-J. Effects of Fish Oil and Spirulina on Oxidative Stress and Inflammation in Hypercholesterolemic Hamsters. *BMC Complement. Altern. Med.* **2014**, *14*, 470. [CrossRef] [PubMed]

64. Ziyaei, K.; Abdi, F.; Mokhtari, M.; Daneshmehr, M.A.; Ataie, Z. Phycocyanin as a Nature-Inspired Antidiabetic Agent: A Systematic Review. *Phytomedicine* **2023**, *119*, 154964. [CrossRef] [PubMed]
65. Gao, Y.; Liao, G.; Xiang, C.; Yang, X.; Cheng, X.; Ou, Y. Effects of Phycocyanin on INS-1 Pancreatic β-Cell Mediated by PI3K/Akt/FoxO1 Signaling Pathway. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *83*, 185–194. [CrossRef] [PubMed]
66. Puengpan, S.; Phetrungnapha, A.; Sattayakawee, S.; Tunsophon, S. Phycocyanin Attenuates Skeletal Muscle Damage and Fatigue via Modulation of Nrf2 and IRS-1/AKT/mTOR Pathway in Exercise-Induced Oxidative Stress in Rats. *PLoS ONE* **2024**, *19*, e0310138. [CrossRef] [PubMed]
67. Gillen, J.B.; Martin, B.J.; MacInnis, M.J.; Skelly, L.E.; Tarnopolsky, M.A.; Gibala, M.J. Twelve Weeks of Sprint Interval Training Improves Indices of Cardiometabolic Health Similar to Traditional Endurance Training despite a Five-Fold Lower Exercise Volume and Time Commitment. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0154075. [CrossRef] [PubMed]
68. Benatti, F.B.; Pedersen, B.K. Exercise as an Anti-Inflammatory Therapy for Rheumatic Diseases-Myokine Regulation. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2015**, *11*, 86–97. [CrossRef] [PubMed]
69. Hennigar, S.R.; McClung, J.P.; Pasiakos, S.M. Nutritional Interventions and the IL-6 Response to Exercise. *FASEB J.* **2017**, *31*, 3719–3728. [CrossRef]
70. Singh, Z.; Karthigesu, I.P.; Singh, P.; Kaur, R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: A Review. *Iran. J. Public Health* **2014**, *43*, 7–16.
71. Noonan, A.M.; Mashouri, P.; Chen, J.; Power, G.A.; Brown, S.H.M. Training Induced Changes to Skeletal Muscle Passive Properties Are Evident in Both Single Fibers and Fiber Bundles in the Rat Hindlimb. *Front. Physiol.* **2020**, *11*, 907. [CrossRef]
72. Close, R. Properties of Motor Units in Fast and Slow Skeletal Muscles of the Rat. *J. Physiol.* **1967**, *193*, 45–55. [CrossRef]
73. Kovanen, V.; Suominen, H.; Heikkinen, E. Mechanical Properties of Fast and Slow Skeletal Muscle with Special Reference to Collagen and Endurance Training. *J. Biomech.* **1984**, *17*, 725–735. [CrossRef] [PubMed]
74. Lambertucci, R.H.; Levada-Pires, A.C.; Rossoni, L.V.; Curi, R.; Pithon-Curi, T.C. Effects of Aerobic Exercise Training on Antioxidant Enzyme Activities and mRNA Levels in Soleus Muscle from Young and Aged Rats. *Mech. Ageing Dev.* **2007**, *128*, 267–275. [CrossRef] [PubMed]
75. Bloomer, R.J.; Goldfarb, A.H. Anaerobic Exercise and Oxidative Stress: A Review. *Can. J. Appl. Physiol.* **2004**, *29*, 245–263. [CrossRef]
76. Cunningham, P.; Geary, M.; Harper, R.; Pendleton, A.; Stover, S. High intensity sprint training reduces lipid peroxidation in fast-twitch skeletal muscle. *J. Exerc. Physiol. Online* **2005**, *8*, 18–25.
77. Lamb, G.D.; Westerblad, H. Acute Effects of Reactive Oxygen and Nitrogen Species on the Contractile Function of Skeletal Muscle. *J. Physiol.* **2011**, *589*, 2119–2127. [CrossRef] [PubMed]
78. Steinbacher, P.; Eckl, P. Impact of Oxidative Stress on Exercising Skeletal Muscle. *Biomolecules* **2015**, *5*, 356–377. [CrossRef] [PubMed]
79. Bruunsgaard, H. Physical Activity and Modulation of Systemic Low-Level Inflammation. *J. Leukoc. Biol.* **2005**, *78*, 819–835. [CrossRef] [PubMed]
80. Vargas-Mendoza, N.; Morales-González, Á.; Madrigal-Santillán, E.O.; Madrigal-Bujaidar, E.; Álvarez-González, I.; García-Melo, L.F.; Anguiano-Robledo, L.; Fregoso-Aguilar, T.; Morales-Gonzalez, J.A. Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. *Antioxidants* **2019**, *8*, 196. [CrossRef]
81. Vichaiwong, K.; Henriksen, E.J.; Toskulkao, C.; Prasannarong, M.; Bupha-Intr, T.; Saengsirisuwan, V. Attenuation of Oxidant-Induced Muscle Insulin Resistance and P38 MAPK by Exercise Training. *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *47*, 593–599. [CrossRef]
82. Li, S.; Wang, R.; Song, F.; Chen, P.; Gu, Y.; Chen, C.; Yuan, Y. Salvianolic Acid A Suppresses CCl4-Induced Liver Fibrosis through Regulating the Nrf2/HO-1, NF-κB/IκBα, P38 MAPK, and JAK1/STAT3 Signaling Pathways. *Drug Chem. Toxicol.* **2023**, *46*, 304–313. [CrossRef] [PubMed]
83. Tarini, V.A.F.; Carnevali, L.C.; Arida, R.M.; Cunha, C.A.; Alves, E.S.; Seeleander, M.C.L.; Schmidt, B.; Faloppa, F. Effect of Exhaustive Ultra-Endurance Exercise in Muscular Glycogen and Both Alpha1 and Alpha2 Ampk Protein Expression in Trained Rats. *J. Physiol. Biochem.* **2013**, *69*, 429–440. [CrossRef]
84. Thomson, D.M. The Role of AMPK in the Regulation of Skeletal Muscle Size, Hypertrophy, and Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3125. [CrossRef] [PubMed]
85. Joseph, A.-M.; Pilegaard, H.; Litvintsev, A.; Leick, L.; Hood, D.A. Control of Gene Expression and Mitochondrial Biogenesis in the Muscular Adaptation to Endurance Exercise. *Essays Biochem.* **2006**, *42*, 13–29. [CrossRef] [PubMed]
86. Olesen, J.; Kiilerich, K.; Pilegaard, H. PGC-1α-Mediated Adaptations in Skeletal Muscle. *Pflug. Arch. Eur. J. Physiol.* **2010**, *460*, 153–162. [CrossRef] [PubMed]
87. Vainshtein, A.; Desjardins, E.M.; Armani, A.; Sandri, M.; Hood, D.A. PGC-1α Modulates Denervation-Induced Mitophagy in Skeletal Muscle. *Skelet. Muscle* **2015**, *5*, 9. [CrossRef] [PubMed]

88. Gibala, M.J.; McGee, S.L.; Garnham, A.P.; Howlett, K.F.; Snow, R.J.; Hargreaves, M. Brief Intense Interval Exercise Activates AMPK and P38 MAPK Signaling and Increases the Expression of PGC-1α in Human Skeletal Muscle. *J. Appl. Physiol.* **2009**, *106*, 929–934. [CrossRef]
89. Mathai, A.S.; Bonen, A.; Benton, C.R.; Robinson, D.L.; Graham, T.E. Rapid Exercise-Induced Changes in PGC-1α mRNA and Protein in Human Skeletal Muscle. *J. Appl. Physiol.* **2008**, *105*, 1098–1105. [CrossRef] [PubMed]
90. Kraniou, G.N.; Cameron-Smith, D.; Hargreaves, M. Effect of Short-Term Training on GLUT-4 mRNA and Protein Expression in Human Skeletal Muscle. *Exp. Physiol.* **2004**, *89*, 559–563. [CrossRef] [PubMed]
91. Xirouchaki, C.E.; Mangiafico, S.P.; Bate, K.; Ruan, Z.; Huang, A.M.; Tedjosiswoyo, B.W.; Lamont, B.; Pong, W.; Favaloro, J.; Blair, A.R.; et al. Impaired Glucose Metabolism and Exercise Capacity with Muscle-Specific Glycogen Synthase 1 (Gys1) Deletion in Adult Mice. *Mol. Metab.* **2016**, *5*, 221–232. [CrossRef] [PubMed]
92. Atkinson, B.J.; Griesel, B.A.; King, C.D.; Josey, M.A.; Olson, A.L. Moderate GLUT4 Overexpression Improves Insulin Sensitivity and Fasting Triglyceridemia in High-Fat Diet–Fed Transgenic Mice. *Diabetes* **2013**, *62*, 2249–2258. [CrossRef] [PubMed]
93. Henique, C.; Mansouri, A.; Vavrova, E.; Lenoir, V.; Ferry, A.; Esnous, C.; Ramond, E.; Girard, J.; Bouillaud, F.; Prip-Buus, C.; et al. Increasing Mitochondrial Muscle Fatty Acid Oxidation Induces Skeletal Muscle Remodeling toward an Oxidative Phenotype. *FASEB J.* **2015**, *29*, 2473–2483. [CrossRef]
94. Manini, T.M.; Clark, B.C.; Nalls, M.A.; Goodpaster, B.H.; Ploutz-Snyder, L.L.; Harris, T.B. Reduced Physical Activity Increases Intermuscular Adipose Tissue in Healthy Young Adults2. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 377–384. [CrossRef] [PubMed]
95. Guilhot, C.; Fovet, T.; Delobel, P.; Dargegen, M.; Jasmin, B.J.; Brioche, T.; Chopard, A.; Py, G. Severe Muscle Deconditioning Triggers Early Extracellular Matrix Remodeling and Resident Stem Cell Differentiation into Adipocytes in Healthy Men. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 5489. [CrossRef]
96. Calderon-Dominguez, M.; Sebastián, D.; Fucho, R.; Weber, M.; Mir, J.F.; García-Casarrubios, E.; Obregón, M.J.; Zorzano, A.; Valverde, Á.M.; Serra, D.; et al. Carnitine Palmitoyltransferase 1 Increases Lipolysis, UCP1 Protein Expression and Mitochondrial Activity in Brown Adipocytes. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0159399. [CrossRef] [PubMed]
97. Kitaoka, Y. The Role of Nrf2 in Skeletal Muscle on Exercise Capacity. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1712. [CrossRef] [PubMed]
98. Keren, A.; Tamir, Y.; Bengal, E. The P38 MAPK Signaling Pathway: A Major Regulator of Skeletal Muscle Development. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2006**, *252*, 224–230. [CrossRef]
99. Bengal, E.; Aviram, S.; Hayek, T. P38 MAPK in Glucose Metabolism of Skeletal Muscle: Beneficial or Harmful? *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 6480. [CrossRef] [PubMed]
100. Komiya, Y.; Sawano, S.; Mashima, D.; Ichitsubo, R.; Nakamura, M.; Tatsumi, R.; Ikeuchi, Y.; Mizunoya, W. Mouse Soleus (Slow) Muscle Shows Greater Intramyocellular Lipid Droplet Accumulation than EDL (Fast) Muscle: Fiber Type-Specific Analysis. *J. Muscle Res. Cell Motil.* **2017**, *38*, 163–173. [CrossRef]
101. Bhawe, K.; Roy, D. Interplay between NRF1, E2F4 and MYC Transcription Factors Regulating Common Target Genes Contributes to Cancer Development and Progression. *Cell. Oncol.* **2018**, *41*, 465–484. [CrossRef] [PubMed]
102. Randle, P.J.; Garland, P.B.; Hales, C.N.; Newsholme, E.A. The Glucose Fatty-Acid Cycle. Its Role in Insulin Sensitivity and the Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus. *Lancet* **1963**, *1*, 785–789. [CrossRef]
103. St-Pierre, J.; Drori, S.; Uldry, M.; Silvaggi, J.M.; Rhee, J.; Jäger, S.; Handschin, C.; Zheng, K.; Lin, J.; Yang, W.; et al. Suppression of Reactive Oxygen Species and Neurodegeneration by the PGC-1 Transcriptional Coactivators. *Cell* **2006**, *127*, 397–408. [CrossRef] [PubMed]
104. McFarlan, J.T.; Yoshida, Y.; Jain, S.S.; Han, X.-X.; Snook, L.A.; Lally, J.; Smith, B.K.; Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P.; Sayer, R.A.; et al. In Vivo, Fatty Acid Translocase (CD36) Critically Regulates Skeletal Muscle Fuel Selection, Exercise Performance, and Training-Induced Adaptation of Fatty Acid Oxidation *. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 23502–23516. [CrossRef] [PubMed]
105. Louet, J.F.; Le May, C.; Pégorier, J.P.; Decaux, J.F.; Girard, J. Regulation of Liver Carnitine Palmitoyltransferase I Gene Expression by Hormones and Fatty Acids. *Biochem. Soc. Trans.* **2001**, *29*, 310–316. [CrossRef] [PubMed]
106. Zizola, C.; Kennel, P.J.; Akashi, H.; Ji, R.; Castillero, E.; George, I.; Homma, S.; Schulze, P.C. Activation of PPARδ Signaling Improves Skeletal Muscle Oxidative Metabolism and Endurance Function in an Animal Model of Ischemic Left Ventricular Dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2015**, *308*, H1078–H1085. [CrossRef] [PubMed]
107. Fischer, H.; Gustafsson, T.; Sundberg, C.J.; Norrbom, J.; Ekman, M.; Johansson, O.; Jansson, E. Fatty Acid Binding Protein 4 in Human Skeletal Muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *346*, 125–130. [CrossRef] [PubMed]
108. Glund, S.; Deshmukh, A.; Long, Y.C.; Moller, T.; Koistinen, H.A.; Caidahl, K.; Zierath, J.R.; Krook, A. Interleukin-6 Directly Increases Glucose Metabolism in Resting Human Skeletal Muscle. *Diabetes* **2007**, *56*, 1630–1637. [CrossRef]
109. Impey, S.G.; Jevons, E.F.P.; Mees, G.; Cocks, M.S.; Strauss, J.A.; Chester, N.; Laurie, I.; Target, D.; Hodgson, A.; Shepherd, S.O.; et al. Glycogen Utilization during Running: Intensity, Sex, and Muscle-Specific Responses. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2020**, *52*, 1966–1975. [CrossRef] [PubMed]

110. Hawley, J.A. Adaptations of Skeletal Muscle to Prolonged, Intense Endurance Training. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2002**, *29*, 218–222. [CrossRef]
111. Li, L.; Jiang, Z.; Yao, Y.; Yang, Z.; Ma, H. (−)-Hydroxycitric Acid Regulates Energy Metabolism by Activation of AMPK-PGC1α-NRF1 Signal Pathway in Primary Chicken Hepatocytes. *Life Sci.* **2020**, *254*, 117785. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

2. **Publication 2 :** Spirulina liquid extract regulates gene expression related to glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in young male Wistar rats fed a high-fat diet *(Nutr. Res., en révision NTR-D-25-00190R1).*

L'obésité, en constante progression depuis 1975, est largement attribuée à la sédentarité et à une alimentation riche en graisses saturées et en sucres raffinés. Ces facteurs perturbent le métabolisme du glucose et des lipides, notamment au niveau du muscle squelettique, favorisant l'apparition d'une résistance à l'insuline. L'exercice aérobie améliore ce métabolisme, en stimulant la biogenèse mitochondriale et restaurant la sensibilité à l'insuline. Les microalgues telles que la spiruline, riches en PC, présentent des propriétés antioxydantes et métaboliques intéressantes. Cette étude vise à évaluer l'effet combiné du SLE et de l'exercice physique sur des rats rendus obèses par un régime HFHS dès le jeune âge, en ciblant les paramètres plasmatiques et musculaires du métabolisme.

La consommation d'un régime HFHS, favorise le stockage des graisses et induit une prise de poids significative, comme le confirment les résultats observés dans notre modèle murin. La supplémentation en SLE seule n'a pas permis de prévenir cette prise de poids. En revanche, l'entraînement en endurance, seul ou combiné avec la supplémentation en SLE, a induit une réduction significative du poids corporel. Le test de tolérance au glucose a mis en évidence que le régime HFHS induit une intolérance glucidique, caractérisée par une élévation significative de la glycémie post-injection. L'entraînement en endurance a permis d'atténuer cette altération, suggérant une amélioration de la sensibilité à l'insuline. La supplémentation en SLE a également réduit légèrement la glycémie au cours du test, ainsi que la glycémie à jeun. Par ailleurs, l'association de l'entraînement et du SLE a conduit à une réduction significative du pic glycémique observé à 15 minutes post-injection, traduisant un effet protecteur contre l'intolérance glucidique induite par le régime obésogène. Ces résultats sont en partie cohérents avec des études antérieures montrant que la PC pouvait stimuler l'activité des cellules β-pancréatiques, favorisant ainsi la sécrétion d'insuline et la régulation glycémique. Toutefois, dans notre étude, aucune modification significative de l'insulinémie plasmatique n'a été mesurée. Nous émettons l'hypothèse que l'effet hypoglycémiant du SLE pourrait reposer sur des mécanismes indépendants de l'insuline. Sur le plan lipidique, une augmentation des TG plasmatiques a été observée suite à la supplémentation en SLE, suggérant une éventuelle augmentation de l'absorption intestinale des lipides. Cependant, cette élévation n'a pas été

accompagnée d'un gain pondéral supplémentaire, ce qui laisse penser qu'elle ne s'est pas traduite par un stockage lipidique additionnel. En revanche, cette élévation des TG n'étant pas présente dans le groupe combinant SLE et entraînement, ceci pourrait être un effet de l'entraînement en endurance. Ce dernier agit en activant la lipoprotéine lipase, en augmentant l'oxydation des lipides, en réduisant les concentrations d'AGL circulants, et en favorisant leur stockage sous forme d'IMTG. Par ailleurs, le HDL-cholestérol a significativement augmenté dans le groupe combinant SLE et entraînement, suggérant une amélioration du transport inverse du cholestérol, un mécanisme reconnu pour ses effets cardioprotecteurs. Ce résultat s'accompagne d'une diminution du non-HDL-cholestérol et de l'AIP dans le groupe SLE/entraînement comparé au groupe entraînement seul. Cela renforce l'hypothèse d'un effet synergique entre le SLE et de l'exercice physique sur la réduction du risque cardiovasculaire. Au niveau musculaire, l'analyse de l'expression génique dans le muscle soléaire a montré une surexpression de p38 MAPK chez les animaux soumis au régime HFHS, suggérant un stress cellulaire élevé. Cette expression est significativement réduite dans les groupes supplémentés en SLE ou soumis à l'entraînement, ce qui suggère un effet antioxydant du SLE similaire aux effets protecteurs de l'entraînement. Comme attendu, PGC1α, un régulateur central de la biogenèse mitochondriale, est surexprimé en réponse à l'entraînement. Toutefois, sa transcription est réduite en présence de SLE. Cette modulation pourrait être une conséquence de l'activité antioxydante du SLE, limitant l'accumulation d'ERO nécessaires à l'induction de PGC1α. Ce phénomène a été précédemment documenté avec des antioxydants tels que la vitamine C ou E. Il est également possible que le SLE ait accéléré la récupération post-exercice, faisant que l'expression génique de PGC1α ait déjà diminué au moment de l'analyse. Concernant le métabolisme glucidique, l'expression génique de Gys1, codant pour la glycogène synthase musculaire, est restée inchangée avec le régime HFHS. En revanche, une surexpression significative de ce gène est observée suite à la supplémentation en SLE, à l'entraînement, ainsi qu'à leur association, suggérant une activation de la glycogénogenèse musculaire via une voie indépendante de l'insuline, pouvant expliquer l'amélioration de la tolérance au glucose observée. Parallèlement, IRS1 est surexprimé avec le régime obésogène, probablement en tant que mécanisme compensatoire. Cette surexpression est atténuée par l'entraînement et la supplémentation en SLE, indiquant un effet protecteur contre cette dérégulation métabolique. Une des cibles d'IRS1 est GLUT4, transporteur essentiel à l'entrée du glucose dans les cellules musculaires. Dans notre modèle, l'expression génique de GLUT4 est également augmentée avec le régime obésogène, ce qui pourrait refléter un mécanisme adaptatif à une hyperglycémie chronique. Toutefois, si l'entraînement a réduit cette expression, la supplémentation en SLE

n’a pas modifié de manière significative l’expression de GLUT4, malgré la sous-expression d’IRS1. Une hypothèse proposée est que la PC, principal composé actif du SLE, pourrait activer la voie Rac1, une voie de signalisation alternative à l’insuline, impliquée dans le transport du glucose vers les cellules musculaires. Cette activation permettrait d’augmenter l’absorption cellulaire du glucose et sa conversion en glycogène, indépendamment de la voie IRS1/GLUT4, ce qui pourrait expliquer les effets hypoglycémiants observés sans variation significative de l’insulinémie. Concernant le métabolisme lipidique, Fabp4, gène associé à l’accumulation de graisse intramusculaire, est surexprimé dans le muscle SOL au cours d’un régime HFHS, ce qui pourrait altérer le fonctionnement musculaire et induire une lipotoxicité. Cette surexpression est réduite par l'entraînement, et dans une moindre mesure par le SLE, suggérant un effet protecteur vis-à-vis de l’accumulation de graisse intramusculaire. Enfin, CPT1A, gène clé dans le transport des acides gras vers la mitochondrie pour la β-oxydation, est fortement exprimé dans les groupes supplémentés en SLE, mais pas dans le groupe entraîné seul, ce qui suggère un effet direct du SLE sur la stimulation de l’oxydation lipidique mitochondriale. Il est possible que cette activation soit également liée à un découplage mitochondrial, contribuant à une meilleure régulation énergétique et à une protection contre les perturbations métaboliques.

Même si les résultats sont descriptifs et pourraient faire l’objet d’études complémentaires, cette étude met donc en évidence que l’association du SLE et de l’entraînement en endurance atténue les effets métaboliques délétères d’un régime HFHS chez le rat, en améliorant la régulation glycémique, le profil lipidique et l’expression de gènes clés du métabolisme musculaire. Ces résultats suggèrent un effet synergique prometteur pour limiter les complications liées à l’obésité.

Nutrition Research

Spirulina liquid extract regulates gene expression related to glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in young male Wistar rats fed a high-fat diet.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	NTR-D-25-00190R1
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Spirulina liquid extract; Obesity; Soleus muscle; Glucose metabolism; Fatty acid metabolism
Corresponding Author:	Lionel Ulmann Le Mans Université FRANCE
First Author:	Jordi Vignaud
Order of Authors:	Jordi Vignaud
	Céline Loiseau, Dr.
	Martine Côme
	Josiane Hérault, Dr.
	Claire Mayer, Dr.
	Olivier Lépine
	Lionel Ulmann, Dr.
Abstract:	Metabolic disorders induced by high-fat diets (HFD) contribute significantly to obesity, diabetes, and cardiovascular diseases (CVD). While Spirulina liquid extract (SLE) has shown promise in improving lipid accumulation and insulin resistance, in vivo evidence remains limited, particularly in combination with exercise. Muscle activity is a key regulator of metabolism, but the potential synergistic effect of SLE and physical training under HFD conditions has not been clearly established. In this study, young male rats were fed an HFD (60 % energy from lipids) and assigned to five groups: normal diet (C), HFD with 10% fructose (HF), HF with SLE (HFSP), HF with exercise (HFT), and HF with both interventions (HFSPT). The exercise protocol was conducted five times a week for eight weeks. Body weight (BW), nutritional intake, lipid profiles, glycemia regulation and gene expression in soleus muscle of lipids and glucose metabolism were assessed. HFD significantly increased BW and impaired glycemic and lipid profiles. SLE alone increased water intake without affecting weight. Exercise improved glucose tolerance and upregulated PGC1α and CPT1A. Combined SLE and exercise (HFSPT) reduced BW, improved HDL-cholestérol (HDL-chol), lowered the atherogenic index, and modulated gene expression of glucose and lipid metabolisms, without additional effects on PGC1α or GLUT4. SLE independently upregulated CPT1A and Gys1, suggesting alternative pathways independent of IRS1/GLUT4. Additionally, p38 MAPK, an oxidative stress sensor, was elevated by HFD but downregulated with SLE, exercise, or both. These findings support the potential of SLE as a complementary strategy to exercise for managing HFD-induced metabolic dysfunctions.
Response to Reviewers:	RESPONSE TO REVIEWERS Ref.: Ms. No. NTR-D-25-00190 Spirulina liquid extract regulates glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in male Wistar rats fed a high-fat diet Nutrition Research Comments from the Editors and Reviewers: The research results reported are too premature for publication. More work is needed to substantiate the conclusions in your manuscript.

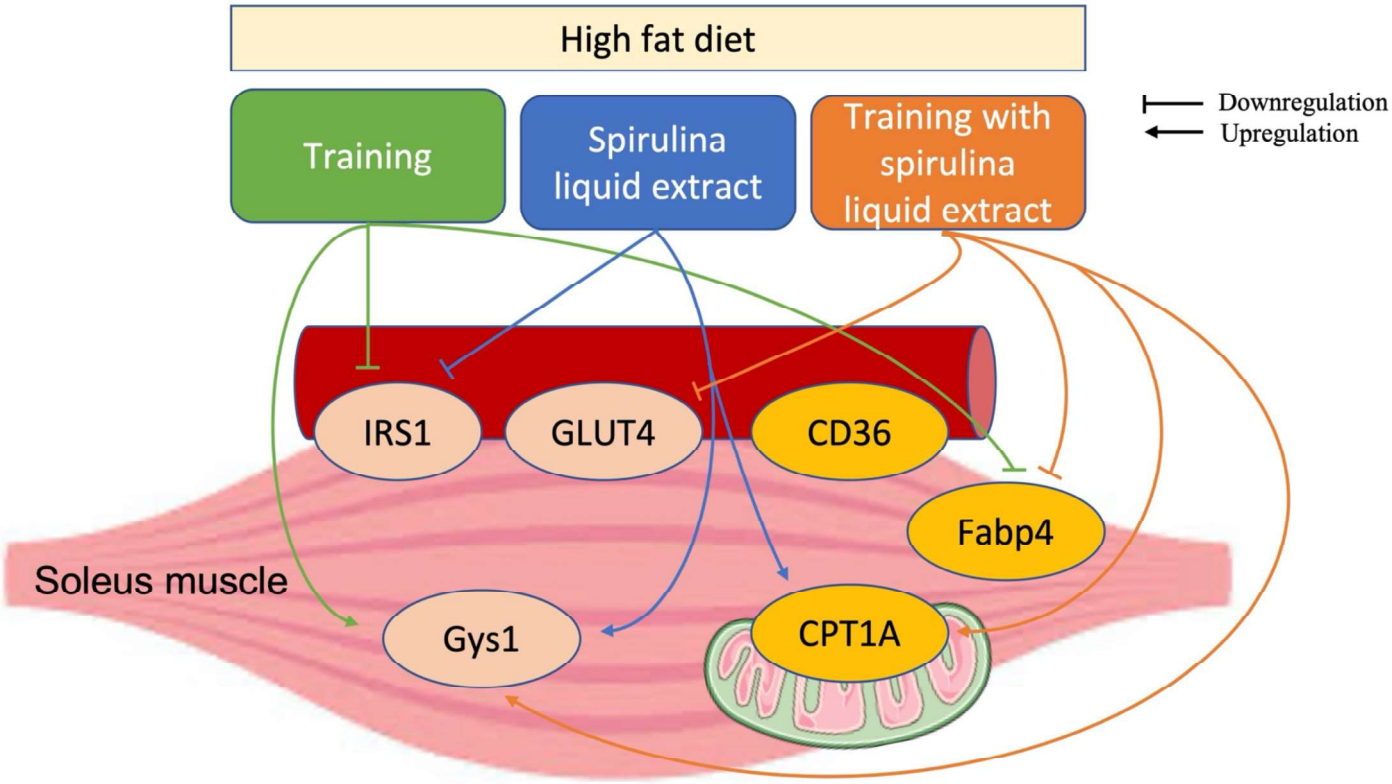
Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

- Spirulina liquid extract (SLE) has beneficial effects on soleus muscle glucose and lipid metabolism.

- SLE reduces glycemia, upregulates Gys1 and downregulates IRS1 expressions.

- SLE combined with training increases HDL-chol, reduces non-HDL-chol.

- SLE upregulates CPT1A and downregulates Fabp4 gene expressions.


High fat diet
Training
Spirulina liquid extract
Training with spirulina liquid extract
Downregulation
Upregulation
IRS1
GLUT4
CD36
Fabp4
Soleus muscle
Gys1
CPT1A

Legend to Graphical Abstract

Evaluation of *Spirulina* liquid extract on Wistar rats fed a high-fat diet during 8 weeks of exercise. In skeletal muscle, the extract showed effects similar to exercise on glycogen storage. Combined, it enhanced the gene expression related to fatty acid oxidation and glucose storage. IRS1: Insulin Receptor Substrate 1, GLUT4: Glucose Transporter Type 4, Gys1: Glycogen Synthase 1, CD36: Cluster of Differentiation 36, Fabp4: Fatty Acid Binding Protein 4, CPT1A: Carnitine Palmitoyltransferase 1A.

Revised manuscript (clean version) Click here to view linked References

Spirulina liquid extract regulates gene expression related to glucose and lipid metabolisms of soleus muscle during exercise training in young male Wistar rats fed a high-fat diet.

Jordi Vignaud[1], Céline Loiseau[1], Martine Côme[1], Josiane Hérault[1], Claire Mayer[1], Olivier Lépine[2], Lionel Ulmann[1,*]

[1] Laboratoire BiOSSE, Biologie des Organismes, Stress, Santé, Environnement, IUT Département Génie Biologique, 52 rue des Drs Calmette et Guérin, Le Mans Université, 53020 Laval Cedex 9, France. jordi.vignaud@univ-lemans.fr; celine.loiseau@univ-lemans.fr; martine.come@univ-lemans.fr; josiane.herault@univ-lemans.fr; claire.mayer@univ-lemans.fr; lionel.ulmann@univ-lemans.fr.

[3] Société Algosource, 3 rue des Sources, 44350 Guérande, France. olivier.lepine@algosource.com.

Sources of Support: The work was supported by the Collectivités Locales Mayennaises

Author Declarations: 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.

* Corresponding author: Prof. Lionel Ulmann. Address: Laboratoire BiOSSE, Biologie des Organismes, Stress, Santé, Environnement, IUT Département Génie Biologique, Le Mans

Université, 52 rue des Drs Calmette et Guérin, 53020 Laval Cedex 9, France. E-mail:

Lionel.Ulmann@univ-lemans.fr

Phone: + 33 (0)2 44 02 24 73

Number of figures: 5

Number of tables: 4

List of abbreviations

AIP: atherogenic index of plasma

AMPK: AMP-activated protein kinase

AUC: area under the curve

BW: bodyweight

CD36: cluster of differentiation 36

CPT1A: carnitine palmitoyltransferase 1A

CVD: cardiovascular disease

Fabp4: fatty acid-binding protein 4

GLUT4: glucose transporter type 4

GTT: glucose tolerance test

Gys1: glycogen synthase 1

HDL-chol: high-density lipoprotein cholesterol

HFD: high fat diet

IRS1: insulin receptor substrate 1

LDL: low-density lipoprotein

MAS: maximal aerobic speed

Non-HDL-chol: non-high-density lipoprotein cholesterol

P38MAPK: P38 mitogen-activated protein kinase

PC: phycocyanin

PGC1α: peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

SLE: *Spirulina* liquid extract

TG: triglycerides

Abstract

Metabolic disorders induced by high-fat diets (HFD) contribute significantly to obesity, diabetes, and cardiovascular diseases (CVD). While *Spirulina* liquid extract (SLE) has shown promise in improving lipid accumulation and insulin resistance, *in vivo* evidence remains limited, particularly in combination with exercise. Muscle activity is a key regulator of metabolism, but the potential synergistic effect of SLE and physical training under HFD conditions has not been clearly established.

In this study, young male rats were fed an HFD (60 % energy from lipids) and assigned to five groups: normal diet (C), HFD with 10% fructose (HF), HF with SLE (HFSP), HF with exercise (HFT), and HF with both interventions (HFSPT). The exercise protocol was conducted five times a week for eight weeks. Body weight (BW), nutritional intake, lipid

profiles, glycemia regulation and gene expression in soleus muscle of lipids and glucose metabolism were assessed.

HFD significantly increased BW and impaired glycemic and lipid profiles. SLE alone increased water intake without affecting weight. Exercise improved glucose tolerance and upregulated PGC1α and CPT1A. Combined SLE and exercise (HFSPT) reduced BW, improved HDL-cholestérol (HDL-chol), lowered the atherogenic index, and modulated gene expression of glucose and lipid metabolisms, without additional effects on PGC1α or GLUT4. SLE independently upregulated CPT1A and Gys1, suggesting alternative pathways independent of IRS1/GLUT4. Additionally, p38 MAPK, an oxidative stress sensor, was elevated by HFD but downregulated with SLE, exercise, or both.

These findings support the potential of SLE as a complementary strategy to exercise for managing HFD-induced metabolic dysfunctions.

Keywords

Spirulina liquid extract, Obesity, Soleus muscle, Glucose metabolism, Fatty acid metabolism

1. Introduction

According to a 2021 report by the World Health Organization, over 1.9 billion adults worldwide were classified as overweight in 2016, with more than 650 million falling into the obese category with a prevalence increased from 1975 to 2016 [1]. A significant contributor to the development of obesity is the rise in sedentary behavior, compounded by excessive consumption of foods rich in saturated fatty acids and refined carbohydrates [2,3].

Glucose and fatty acids are two major substrates utilized by mitochondria, specifically in skeletal muscle, playing a key role in the regulation of glycemia and lipid storage [4]. The glucose transporter type 4 (GLUT4), a major glucose transporter in muscle cells, is regulated under physiological conditions by insulin. Indeed, insulin binds to its receptor, where insulin receptor substrate 1 (IRS1) encodes a protein that triggers unidirectional pathways, activating the membrane translocation of GLUT4 and facilitating glucose entry into muscle cells [5]. Then, glucose can be transformed into glycogen by the glycogen synthase enzyme, which is regulated by the glycogen synthase 1 (Gys1) gene. The glycogen is stored in this form in skeletal muscle [6]. However, when fatty acids accumulate in the muscle cell cytosol, they can inhibit the activity of muscle GLUT4. As a consequence, pancreatic insulin secretion is increased to compensate the inactivity of GLUT4, which leads to insulin resistance [4]. Without any physical activity, accumulated fatty acids are less oxidized can induce lipotoxicity, which results in altered oxidation of fatty acids and glucose during mitochondrial dysfunction, leading to apoptosis and inflammation [7].

To counterbalance these alterations, physical training, particularly aerobic exercise, is recommended [8,9]. It has already been reported that aerobic physical exercise regulates body energy expenditure and helps to decrease body fat [10], increases fatty acid oxidation [11], improves the profile and metabolism of lipids and glucose [12,13] and regulates mechanisms involved in chronic inflammation [14]. Moderate aerobic exercise improves mitochondrial dynamics (fusion, fission) and biogenesis, as demonstrated in obese mice induced by high fat diet (HFD) [15]. The regulation factor of mitochondrial dynamics is peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC1α), which has been shown to increase during aerobic training and decrease during HFD [16]. It is recognized that supplemented diets with specific carbohydrates, fatty acids, fibers, vitamins, probiotics, or natural bioactive

58 ingredients from plants, are effective in promoting weight loss and improving insulin
59 sensitivity or glycemic control [17,18].

60 Among food supplements, microalgae are known to provide bioactive molecules such
61 as proteins, carbohydrates, omega-3 polyunsaturated fatty acids, minerals, vitamins, or
62 antioxidants [19]. Among these sources, the cyanobacterium *Spirulina platensis* has been
63 particularly studied due to its high nutritional content: 50–70% protein, 15–25%
64 carbohydrates, 6–13% lipids, 4–6% nucleic acids, and 2–5% minerals and vitamins [20,21]. It
65 has been reported that *Spirulina platensis* can reduce bodyweight (BW), total cholesterol, and
66 triglycerides (TG), while increasing high density lipoprotein (HDL) cholesterol in humans
67 [22]. In rats fed a high-fat diet (60% of total energy intake), supplementation with spirulina
68 reduced glucose and insulin levels, thereby improving insulin resistance. These results suggest
69 that spirulina may have a beneficial effect on managing obesity-related insulin resistance [23].
70 One potential bioactive compound responsible for these antioxidant properties is phycocyanin
71 (PC), which is found in high concentrations in spirulina. PC has demonstrated anti-diabetic
72 effects, including improved insulin sensitivity, regulation of lipid metabolism, and glycemic
73 control [24]. Additionally, PC prevents weight gain during HFD consumption, modulates
74 leptin and resistin levels and reduces pro-inflammatory conditions [25]. Recent studies have
75 reported that a *Spirulina* liquid extract (SLE) rich in PC was able to protect against
76 hyperglycemia, lipid accumulation, inflammation and insulin resistance in mice and hamster
77 models after hypercaloric diet consumption [26,27]. Moreover, in young rats fed a
78 normocaloric diet, it has been reported that SLE increased physical performance and
79 improved glucose and lipid metabolisms through a modified expression of genes such as
80 GLUT4, Gys1, cluster of differentiation 36 (CD36) and carnitine palmitoyltransferase 1A
81 (CPT1A) in the soleus muscle, a skeletal muscle essentially composed of type I fibers [28].

However, while the individual benefits of SLE and aerobic exercise are well documented, their combined effects on skeletal muscle metabolism under HFD conditions, particularly during growth, remain poorly understood. To our knowledge, no study has yet explored the synergistic potential of combining SLE supplementation with aerobic training in the context of early-life exposure to a HFD.

Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of SLE as a food supplement in combination with physical training on HFD rats. Given that human adolescents are increasingly affected by metabolism alteration related to obesity during their growth, 2-week-old rats were submitted to HFD during 8 weeks, corresponding to an equivalent age of young adult. This experimental design allows us to address a key knowledge gap regarding the impact of early nutritional and lifestyle interventions on muscle specific metabolic and energetic gene adaptations. In this study, plasma and soleus muscle samples were analyzed. It has been hypothesized that supplementation with SLE, associated with aerobic exercise, may mitigate the negative effects of HFD on glucose and lipid metabolism in growing rats.

2. Material and methods

2.1 Animals

Forty male Wistar rats, weighing 120 ± 10 g were obtained from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). They were housed four per cage under controlled conditions of temperature hygrometry and with a 12h light/dark cycle. The rats with homogenous weights were randomly distributed into the following groups: a sedentary (defined as no exercise outside of the cage) control group (C), a high-fat diet group (HF), an HF group supplemented with SLE (HFSP), an exercise training group with an HF diet (HFT) and an HFT group supplemented with SLE (HFSPT). To improve the effect of the HF diet, 10% fructose was

105 added to the drinking water [29]. Indeed, fructose is recognized to stimulate the triglyceride
106 synthesis and consequently increases fat storage, thereby promoting obesity [30–32].
107 Moreover, it has been reported that fructose, such as sucrose, acts as a stabilizer of
108 phycocyanin, thereby minimizing any potential confounding effect [33–35]. Finally, when
109 interpreting the results, since the HF group serves as the experimental control and also
110 receives 10% fructose, any measured effects in the supplemented group can be attributed only
111 to the supplementation, and not to the fructose. The experimental procedures, including the
112 rationale for using the animal model and the specifics regarding the 3R rule (housing and
113 husbandry, well-being, animal care and monitoring) have received approval from the Ethical
114 Committee 006 Pays de la Loire and by the French Ministère de l'Education Nationale, de
115 l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (APAFIS #40394-202301111324826 v6, 23
116 February 2023).

117 **2.2 Diets, supplementation and bodyweight monitoring**

118 During a week of acclimatization, all animals were fed *ad libitum* with the standard
119 diet A04 (SAFE, Augy, France) and had free access to tap water. According to the
120 manufacturer's informations, the ingredient composition of the control diet A04 and of the
121 HFD, HF260 (SAFE, Augy, France) are reported in **Table 1**. Additionally, the drinking water
122 for HFD groups was supplemented with 10% (w/w) fructose. The standard A04 diet contains
123 72% carbohydrates, 19% proteins, and 8% lipids, providing a total energy of 3.35 kcal/g. In
124 contrast, the HF260 diet consists of 27% carbohydrates, 14% proteins, and 59% lipids, with a
125 total energy of 5.52 kcal/g. The fructose-supplemented drinking water provides 0.4 kcal/mL.
126 The SLE (commercialized as Spirulysat®) was added to drinking water at a concentration of
127 1.1 mg/100 g of BW and changed every day according to the previous study on hamsters [26].

The chosen concentration of 1.1 mg of PC per 100 g of BW corresponds to a dose of 11 mg/kg of PC. PC typically represents between 15 and 20% of the dry biomass of spirulina, depending on the strain, cultivation conditions, and drying methods [36]. Assuming an average content of 15%, one would need to consume 73.3 mg of spirulina per kg of BW to reach this target dose (11 / 0.15 = 73.3). Thus, for a 70 kg adult, this corresponds to approximately 5 g of spirulina per day. This estimate aligns with doses used in clinical and preclinical literature, which generally range from 13–100 mg/kg/day in humans and 10–1500 mg/kg/day in animals [37]. The SLE was kindly supplied by Algosource (Guérande, France). Its composition is as follows [26]: PC (mg/L) 883; carbohydrates (g/100g) 0.4; amino acids (g/100g): threonine 0.009, aspartate 0.0187, alanine 0.0168, arginine 0.0138, leucine 0.0164, glutamate 0.022; ions (mg/kg): Fe^{2+}, 1.05; Mg^{2+}, 18; Ca^{2+}, 330; K^{+},55; Cu^{2+}, 0.2. According to its composition (the calorie value was 1.67 kcal/100 g dry matter) and the daily provided dose, the SLE caloric supplement was considered negligible. Daily food and water consumption were monitored every day for 8 weeks, and the individual food intake per rat was calculated by dividing the total consumption of the cage by 4. The BW gain of the rats was monitored three times a week and before training. No significant differences in weight evolution were observed between rats within the same cage throughout the study. In the absence of weight disparities, we considered that food consumption was equitable among individuals, with no notable dominance effect, allowing for a reliable interpretation of nutritional data per animal.

2.3 Training protocols

During the acclimatization week, all groups were familiarized with a treadmill (BIOSEB, Vitrolles, France) by gradually increasing the speed from 11 to 21 cm/sec.

Following this adaptation period, the rats distributed in the HFT and HFSPT groups participated in the exercise training protocol. On the final day of the adaptation week, maximal aerobic speed (MAS) was assessed for these groups to adjust the treadmill speed for the upcoming training week (data not reported). MAS was considered as an index of exercise intensity, and endurance training is developed at 60%, 70%, and 80% of MAS [38].Training sessions were conducted on the treadmill five days a week during eight weeks. The MAS protocol started with a running speed of 15 cm/sec, which increased by 3 cm/sec each minute, followed by increments of 2 cm/sec in the subsequent minute. The speed alternates between 3 cm/sec and 2 cm/sec and increases until exhaustion (adapted form of [39,40]). MAS was assessed before each training block to adjust the training speed for the next session. The first training block was structured as follows: week 1 at 60% of MAS, week 2 at 70% of MAS, and week 3 at 80% of MAS. The next two blocks followed the same intensity progression based on MAS, with one additional rule: sprints were incorporated each week at an intensity 10% higher than the MAS prescribed for that respective week. These sprints were intended to improve MAS and further stimulate mitochondrial adaptations [41]. Additionally, each MAS test or daily training session began with a 6-minute warm-up, gradually increasing speed from 15 cm/sec to 30 cm/sec [42].

2.4 Glucose tolerance test

A glucose tolerance test (GTT) was conducted in the 7th week of the experimental protocol. The exercise protocol was halted two days before the test to eliminate any potential effects from recent training and the rats were fasted the day before the test. Briefly, each rat received an intraperitoneal injection of glucose (1 g/kg BW) and blood glucose levels were measured using a glucometer (Freestyle Papillon Vision) from tail vein samples. Glucose

levels were recorded at baseline (0 minutes, before the glucose challenge) and then at 15, 30, 60, 90 and 120 minutes post-injection.

2.5 Blood and tissue sampling

After the final training day, a 3-day rest period was implemented to prevent any acute effects from exercise [43–45]. The animals were then anesthetized with an intraperitoneal injection (0.1 mL/100 g of BW) of a mixture containing diazepam (5 mg/mL) and ketamine (100 mg/mL) in a 4:3 ratio (v/v). Blood samples were collected via the abdominal aorta using an ACD (acid-citrate-dextrose) anticoagulant solution, composed of 130 mM citric acid, 170 mM trisodium citrate and 4% dextrose. The blood was subsequently centrifuged at 1000 × g for 10 minutes and supernatant was collected. The soleus muscle was harvested for biochemical and molecular analyses. All samples were aliquoted and stored at -80°C before analyses.

2.6 Plasma parameter analysis

Plasma concentrations of TG (CAK-1086, Clinisciences), total cholesterol (KA3709, Clinisciences), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-chol, 90406, Biolabo) and insulin (17475383, Fisher) were measured following the manufacturer's instructions. The concentration of non-high-density lipoprotein cholesterol (non-HDL-chol) was calculated by subtracting HDL-chol from total cholesterol [46]. The atherogenic index of plasma (AIP) was calculated using the formula: AIP = log10 (TG/HDL-chol)[47].

2.7 Muscle RNA extraction and gene expression

Thirty milligrams of soleus muscle were used for total RNA extraction, utilizing the RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Abcam). RNA concentration was quantified by measuring absorbance at 260 nm using a Nanodrop OneC (Thermo Fisher Scientific).

Reverse transcription of RNA samples was performed using M-MLV Reverse Transcriptase (Promega) in a GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). In the first step, 1 µg of RNA from each sample, 500 ng of oligo (dT)15 primers and 500 ng of random hexamer primers were incubated in 15 µL at 70°C for 5 minutes to allow annealing. In the second step, 10 µL of a mix containing dNTPs (0.5 mM), M-MLV RT (200 U), RNase inhibitor (25 U) and M-MLV 1X buffer was added. The tubes were then incubated at 42°C for 1 hour, followed by incubation at 70°C for 5 minutes to inactivate the enzyme.

The resulting cDNA was diluted 4 times prior to use. Quantitative PCR was conducted using a QuantStudio 3 qPCR system (Applied Biosystems) with a standard program: an initial denaturation step at 95°C for 2 minutes, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 seconds and annealing/elongation at 60°C for 1 minute. A total of 5 µL of cDNA was added to a 15 µL reaction mix containing 10 µL of GoTaq qPCR Master Mix 2X (Promega), 1 µL of each forward and reverse primer (10 µM) and 3 µL of nuclease-free water.

Primers were designed using Primer3 software. In a view to investigate the expression of genes associated with glucose, lipid and mitochondrial metabolism, a list of primers has been designed (Table 2). Expression levels were calculated using the $2(-\Delta\Delta Ct)$ method and normalized to tubulin α as the housekeeping gene [48].

2.8 Statistical analyses

Statistical power analysis was conducted using G*Power (version 3.1). Since the study involved independent groups without repeated measures, the “F test” family was selected, specifically the “ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way” option. A post hoc power analysis was performed, setting the significance level at 5% ($\alpha = 0.05$) and the total sample size according to the variables. The effect size was calculated based on group means and the

mean standard deviations of the groups. From this effect size, statistical power was computed and is reported in Table 3. All data are presented as mean ± SEM (standard error of the mean). Normality was assessed using the Shapiro-Wilk or Kolmogorov-Smirnov tests. A significance level of $p < 0.05$ was considered statistically significant. Differences between groups were evaluated using one-way ANOVA with either parametric tests (Brown-Forsythe test and Bartlett's test) or non-parametric tests (Kruskal-Wallis test), depending on the data's normality. Post-hoc comparisons were performed using Tukey's or Dunn's tests. Statistical analyses were conducted using Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results

In this study, the experimental control group is the HF group, while the C group is included only for identify the effect of the diet.

3.1 Effect of Spirulina liquid extract and exercise training on bodyweight and nutritional monitoring

The HF group showed a significant increase in BW ($p = 0.02$) and drinking water ($p < 0.0001$) at week 8 compared to C group (**Fig. 1A and B**). The food intake (**Fig. 1C**) decreased ($p < 0.0001$) for HF group compared to C but calorie intake (**Fig. 1D**) did not show any difference.

When comparing the HF group to the HFSP group, no significant effect on BW (**Fig. 1A**) or food intake (**Fig. 1C**) and calorie intakes (**Fig. 1D)** was observed. However, a significant increase in drinking water ($p = 0.007$) was observed (**Fig. 1B**).

Combining training with SLE (HFSPT), a significant decrease in BW ($p = 0.04$) (**Fig. 1A**) and food intake ($p = 0.03$) (**Fig. 1C**) was observed compared to the HF group. Similar to the HFSP group, the HFSPT group showed increased water intake ($p < 0.0001$) (**Fig. 1B**).

Moreover, the calorie intake of HFSPT group (**Fig. 1D**) was significantly increased ($p = 0.03$) compared to the HF group. The effect of SLE supplementation increased water intake in HFSP and HFSPT group, which led to higher calorie intake in HFSPT group due to its fructose intakes. Other effects were attributed to exercise training.

3.2 Glucose tolerance test improves with exercise training but remained unchanged with Spirulina liquid extract.

A significant increase in glycemia regulation at T15 ($p = 0.0002$), T30 ($p < 0.0001$) and T60 ($p = 0.0008$), as well as area under the curve ($p = 0.008$) (AUC) during the GTT has been observed in the HF group compared to the C one (**Fig. 2A**). When HFD was supplemented with SLE (HFSP group), glycemia tended to decrease at T15 ($p = 0.4$) and T60 ($p = 0.14$), although the reduction was not statistically significant (**Fig. 2A**). In the trained groups, the AUC was significantly reduced in HFT ($p = 0.01$) and HFSPT group ($p = 0.001$) compared to the HF group (**Fig. 2B**), indicating that the effect would be attributable to exercise training. Moreover, at T15, the glycemia peak in the HFSPT group was significantly lower ($p = 0.01$) than the HFT group one, demonstrating a cumulative effect of training and SLE supplementation (**Fig. 2A**).

In conclusion, SLE supplementation exhibited an effect in combination with exercise 15 minutes after glucose injection but not at other time points.

3.3 Combination of Spirulina liquid extract supplementation with exercise training improves plasma atherogenic index and high-density lipoprotein cholesterol level

Comparing HF group to C one, it has been reported no difference in the plasma total cholesterol, HDL-chol and non-HDL-chol concentrations (**Table 4**). Additionally, while

glycemia levels in plasma remained unchanged, insulinemia increased significantly ($p = 0.006$). Regarding the HFSP group, a significant increase in TG concentration ($p = 0.01$) and a decrease in glycemia ($p = 0.01$) were observed compared to the HF group. When SLE was combined with exercise training (HFSPT group), TG concentration remained unchanged compared to the HF group (**Table 4**). However, the HDL-chol level increased significantly ($p = 0.01$) and glycemia decreased ($p = 0.0007$) in HFSPT compared to the HF group, as observed in the HFSP one (**Table 4**). Notably, HDL cholesterol did not increase in the HFT group, indicating a combined effect of both SLE supplementation and exercise training. Similarly, the AIP index and non-HDL cholesterol levels were significantly lower ($p = 0.001$ and $p = 0.002$ respectively) in the HFSPT group compared to the HFT group (**Table 4**).

In conclusion, while SLE increased TG levels, this effect was not observed when combined with exercise training. Moreover, the combination of SLE and exercise led to an increase in HDL-chol and a decrease in the AIP index.

3.4 Spirulina liquid extract and training do not have the same effect on the mRNA expression levels of P38 MAPK and PGC1α in the soleus muscle

In the HF group, a significant upregulation ($p = 0.01$) of P38 MAPK and a trend toward increased ($p = 0.2$) PGC1α expression compared to C one is observed (**Fig. 3A** and **3B**). Interestingly, a significant downregulation of P38 MAPK expression was observed in the HFSP ($p < 0.0001$), HFT ($p < 0.0001$) and HFSPT ($p < 0.0001$) groups compared to the HF one (**Fig. 3A**). The combination of SLE with training did not induce any additional changes in P38 MAPK gene expression. During exercise training, the PGC1α gene is overexpressed ($p = 0.2$) (HFT compared to HF group). With SLE supplementation (HFSPT group), the PGC1α gene was significantly downregulated ($p = 0.0004$) in comparison to the HFT group (**Fig. 3B**).

289 Moreover, a trend toward downregulation was observed between HF and HFSP group (p =
290 0,06).

291 To conclude, SLE alone decreases P38 MAPK gene expression, while no synergistic
292 effect is observed with exercise training. Interestingly, PGC1α mRNA expression tends to
293 decrease with SLE alone, but when combined with exercise training, its expression decreases
294 significantly in the HFSPT group compared to the HFT group.

295 **3.5 The mRNA expression levels of glucose metabolism pathways are improved**
296 **by Spirulina liquid extract, demonstrating a similar effect to exercise training in soleus**
297 **muscle.**

298 An upregulation of IRS1 and GLUT4 gene expression was observed (p = 0.04 and p =
299 0.01 respectively) in the HF group compared to the C one (**Fig. 4A** and **4B**) while the Gys1
300 gene expression remained unchanged (**Fig. 4C**). Compared to the HF group, a decrease in the
301 IRS1 gene expression was significantly observed in HFSP (p = 0.01) and HFT (p = 0.04)
302 groups but not (p = 0.1) in the HFSPT one (**Fig. 4A**). On the other hand, GLUT4 gene
303 expression was downregulated during exercise training (p = 0.02) (HFT group) and with SLE
304 (p = 0.02) (HFSPT group) compared to the HF group (**Fig. 4B**). Gys1 gene expression was
305 significantly upregulated in all three conditions: HFSP, HFT and HFSPT (p = 0.02, p = 0.02
306 and p = 0.03 respectively) compared to the HF group.

307 To conclude, regarding the IRS1 and Gys1 gene expression, SLE supplementation
308 produced changes similar to exercise training, but without any added effect when combined
309 with exercise training. The GLUT4 mRNA expression was downregulated with exercise
310 training alone or with SLE supplementation.

3.6 Combination of Spirulina liquid extract supplementation with exercise training regulates lipid metabolism with the upregulation of CPT1A and the dowregulation of Fabp4 gene expression in soleus muscle.

The HFD induced a downregulation and an upregulation of the CPT1A and Fabp4 gene expressions ($p = 0.02$ and $p = 0.04$), respectively compared to the control group (C) (**Fig. 5B** and **5C**), without any effect on the CD36 gene expression (**Fig. 5A**). The Fabp4 gene expression tended to decrease with SLE supplementation (HFSP vs HF, $p = 0.19$) (**Fig. 5B**). During exercise training, when SLE supplementation was used (HFSPT group) or not (HFT), a significant downregulation of Fabp4 mRNA expression was observed ($p = 0.0004$ and $p < 0.0001$ respectively) compared to the HF group. (**Fig. 5B**). Furthermore, the supplementation with SLE (HFSP group) significantly upregulated CPT1A gene expression ($p = 0.0008$) and this improvement was also observed in the presence of exercise training (HFSPT group) ($p = 0.03$) compared to the HF group (**Fig. 5C**). Regarding CD36 gene expression, no significant difference was observed between groups (**Fig. 5A**).

To conclude, SLE supplementation upregulates CPT1A expression and appears to have a combined effect with exercise training.

4. Discussion

The hypothesis that SLE supplementation combined with aerobic exercise mitigates the negative effects of HFD on glucose and lipid metabolism was partially supported by the plasma results. Exercise alone showed benefits in glycemic regulation, particularly by improving glucose tolerance. SLE supplementation had similar effects to exercise on fasting glycemia regulation. However, when SLE and exercise were combined, the lipid profile improved, with an increase in HDL-chol compared to the HF group. When the combinate

group (HFSPT) was compared to exercise group (HFT) a decrease in non-HDL-chol was observed. Both results suggest a synergistic effect on lipid metabolism. Furthermore, the AIP index also decreased with both exercise and SLE compared to exercise group (HFT). These findings indicate that the combination of exercise and SLE can improve both lipid and glucose metabolism regulation in plasma. Regarding muscle gene expressions, the hypothesis is also partially supported. Exercise training led to beneficial changes in genes such as PGC1α and P38 MAPK, which are involved in oxidative stress management and muscle adaptation. SLE supplementation alone appeared to increase glucose storage in the soleus muscle, as indicated by the upregulation of the Gys1 gene. Furthermore, when combined with exercise, SLE supplementation showed an upregulation of both Gys1 and CPT1A genes, suggesting potential benefits for muscle metabolism. These changes in gene expression support a protective role for SLE, potentially similar to the effects of exercise, although the combination of both exerted a more pronounced impact on lipid metabolism.

During this work, the effects of SLE supplementation with or without exercise training were investigated in rats fed an HFD. Nutritional and plasma parameters have been studied and gene expression in the soleus muscle has been analyzed after eight weeks. Thus, in this section, only the effects of SLE and exercise training, combined or not, will be discussed according to the studied parameters, in the HFD fed rats.

In the present conditions, it was demonstrated that HFD increased BW, as already reported using the same experimental design [49]. However, SLE supplementation did not alter this parameter. In combination with exercise, a decrease in BW was observed. The PC in SLE has not been shown to have any effect on BW, regardless of the administered concentration in rats [50]. Thus, our results could be attributed to exercise rather than to the food supplement. In our study, drinking water supplemented with 10% of fructose induced an

358 increased uptake (HF group compared to C one), with a higher increase in the SLE
359 supplemented groups. Previously, it has been reported that the consumption of carbohydrates
360 such as sucrose, glucose but also fructose was able to alter hunger and satiety hormones such
361 as ghrelin and leptin, leading to an increased appetite for sweet foods [51]. Thus, one part of
362 our results could be explained by the use of fructose in the drinking water but not by the SLE
363 supplementation while it has been reported that *Spirulina platensis* or PC was able to decrease
364 appetite [52,53]. Thus, the increased drinking water intake in the SLE groups could be
365 explained by a hypothetical more appealing taste.

366 During SLE supplementation, no modification in food intake has been observed, but
367 caloric intake increased, related with a higher fructose supplemented water consumption. In
368 the trained groups, food intake decreased as described during chronic exercise which can alter
369 hypothalamic signaling leading to a reduction in satiety [54]. In the present study, after 8
370 weeks of protocol, exercise training did not significantly decrease calorie intake. But an
371 increase was observed in the HFSPT group (exercise with SLE supplementation), likely due
372 to the elevated water intake in this group.

373 In a view to investigate the glucose absorption and the mechanisms associated with
374 glycemia regulation, a GTT was performed. It is well-known that a HFD composed with
375 saturated fatty acids induces dysregulation in glucose homeostasis following glucose injection
376 [29]. In this study, it was found that exercise training improved glycemic control and AUC,
377 demonstrating its beneficial effect on glucose tolerance. This improvement could primarily be
378 attributed to enhanced insulin sensitivity and increased lipid mobilization [55]. Interestingly,
379 SLE supplementation alone induced a slight trend towards decreased glycemia decrease.
380 Although not significant, this trend could be explained by the PC content of SLE. Indeed, PC
381 has previously been shown to improve glucose regulation. In KK-Ay mice, PC significantly

382 reduced blood glucose concentrations during GTT [24]. Moreover, previous studies on
383 hamsters supplemented with SLE under HFD conditions have similarly demonstrated
384 reductions in fasting glycemia [26]. However, in the HFSP group, fasting blood glucose levels
385 were significantly lower compared to the HF group, a similar effect observed with exercise
386 training. In contrast, plasma insulin concentrations remained unchanged whatever the
387 experimental conditions. It has been reported that PC, can enhance pancreatic beta-cell
388 function by activating the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway, thereby
389 offering protection against methylglyoxal, a glycation agent implicated in cellular damage
390 during diabetes [56,57]. Therefore, our results do not agree with previous data. Further study
391 would be needed to investigate this discrepancy and determine the specific conditions under
392 which SLE supplementation may influence insulin concentrations.

393 In the HFD group supplemented with SLE, it has been observed a significant increase
394 in plasma TG levels. However, the total cholesterol, HDL-chol and non-HDL-chol remained
395 unchanged compared to the HFD group (HF vs HFSP). It has been reported that in hamsters
396 supplemented with 0.2% cholesterol, the plasma TG levels decreased with PC [58]. Another
397 study, conducted on a hyperlipidemia and altered lipid metabolism model using
398 apolipoprotein E-deficient mice supplemented with the same SLE extract, reported an
399 increase ($p = 0.06$) in plasma TG levels in male mice [59]. Moreover, PC has been shown to
400 increase the length of intestinal villi, thereby improving the guts ability to absorb dietary fats,
401 as demonstrated in mice [60]. Thus, as plasma compartment can reflect food absorption, it
402 could be proposed that SLE increased TG absorption in relation with HFD. Further studies
403 should be necessary to dissociate the effects of SLE and PC, which appear to act differently.
404 On the other hand, in the HFSPT group, this increase was not observed. Indeed, the review by
405 Muscella et al. demonstrated that training reduces plasma TG levels through several

406 mechanisms. First, lipoprotein lipase activity is increased, leading to the degradation of TG-
407 rich lipoproteins. Second, there is a reduction in hepatic TG and very low-density lipoprotein
408 production, which is associated with exercise-induced hypoinsulinemia. Finally, exercise
409 promotes lipid oxidation and reduces circulating free fatty acid levels. In addition, TGs can be
410 stored within intramuscular cells and more readily taken up by muscles during endurance
411 training conditions [61]. These mechanisms related to exercise training could explain that no
412 modification in TG levels were observed in the HFSPT group. Moreover, exercise training is
413 also able to increase intestinal barrier permeability [62]. Thus, the effects of exercise and PC
414 on the intestinal barrier, could affect permeability and nutrient absorption. In order to better
415 understand these effects on the intestinal barrier, other studies should be conducted to confirm
416 the hypotheses proposed here. Interestingly, the HDL-chol in the HFSPT group increased
417 significantly compared to the HF and HFT groups. As HDL-chol is able to reverse
418 cholesterol transport from peripheral tissues, it is considered protective against CVD [63,64].
419 It has been already reported that with or without a HFD, SLE or PC did not alter HDL-chol
420 levels in the serum of hamsters [26] or rats [50]. As expected, no modification in the HDL-
421 chol level has been obtained using SLE (HFSP). Even if no effect has not also been observed
422 during training (HFT), it can be considered that a cumulative effect of these two parameters is
423 obtained related with the increase plasma HDL-chol concentration (**Table 4**). Moreover, the
424 plasma non-HDL-chol level in the HFSPT group decreased significantly compared to HFT
425 and HFSP groups. The present study reported that total cholesterol was not modified whatever
426 the conditions (**Table 4**). However, the levels of HDL-chol increased and non-HDL-chol
427 decreased when SLE and exercise training were combined, leading to a beneficial effect
428 against lipid consumption, which is known to induce CVD [65]. Moreover, the AIP,
429 confirmed the evolution of both previous makers, with a decrease observed only in the

HFSPT group. The AIP is considered as CVD marker and is calculated taking into account the TG and HDL-chol concentrations. A study has reported that it is able to reflect the lipid profile and atherogenic lipoproteins, highlighting its relevance [66]. Thus, our results support preventive effect of SLE combined with exercise training on CVD risks.

Regarding relative gene expression, P38 MAPK is upregulated in the soleus muscle with a HFD compared to a control diet (C vs. HF groups) and PGC1α not showed statistical difference. P38 MAPK responds positively to elevated pro-oxidant molecules in skeletal muscle and plays a role in glucose uptake independently of insulin [67]. The role of the stress-activated serine/threonine kinase p38 MAPK has been demonstrated in response to H_2O_2 exposure in L6 myocytes [68] and in isolated rat skeletal muscle [69]. Thus, its upregulation indicates increased oxidative stress and potential insulin resistance which likely correlate with the impaired GTT and the elevated insulin levels in plasma observed between the C and HF groups. Conversely, PGC1α mRNA, known in skeletal muscle for regulating glucose metabolism, fatty acid oxidation and mitochondrial turnover and dynamics [70] is typically downregulated by obesogenic diets [71,72]. In the present study, our HFD did not lead to a downregulation of PGC1α, but rather to an upregulation, likely as a compensatory response. The presence of SLE supplementation, exercise and their combination downregulate the expression of P38 MAPK. According to the study by Vichaiwong, exercise training can counteract the effects of a HFD and insulin resistance [67]. This can explain the improvement observed during the GTT in the exercise groups (HFT and HFSPT). Moreover, HFD is known to induce oxidative stress in skeletal muscle composed of type 1 fibers [73], as evidenced in the present study by the upregulation of P38 MAPK. Thus, Interestingly, supplementation with SLE, exercise, or their combination led to a downregulation of P38 MAPK, suggesting that SLE may exert antioxidant effects in skeletal muscle. This result is probably due to PC

454 content which has demonstrated anti-inflammatory and antioxidant effects [74]. In contrast,
455 PGC1α expression significantly increased in the exercise training group (HFT),
456 corresponding to mitochondrial biogenesis and muscle adaptation due to training [75,76].
457 However, in the HFSP group, the PGC1α expression tends to downregulate compared to HF
458 group, while this downregulation was significant particularly in the HFSPT group compared
459 to HFT group. It is possible that phycocyanin possesses antioxidant properties capable of
460 neutralizing reactive oxygen species such as hydrogen peroxide (H_2O_2), which plays a key
461 signaling role in the activation of transcription pathways, as PGC1α [77,78]. The absence of
462 upregulation in the HFSPT group, as in the HFT group, could reflect an indirect inhibitory
463 effect of SLE on exercise-induced adaptive signaling, through a mechanism similar to that
464 observed with vitamins C and E. Furthermore, a recent study has shown that phycocyanin
465 exerts antioxidants effects comparable to those of vitamins C [79]. However, this
466 interpretation remains hypothetical and should be further investigated through complementary
467 studies, particularly by directly measuring the antioxidant activity of SLE in muscle tissue and
468 its effects on ROS.

469 Interestingly, Gys1 expression was upregulated in the HFSP group compared to HF
470 group. It has been reported that in soleus muscle of Gys1 knockdown mice, glycogen levels
471 decreased by around 70% compared to controls and this was associated with glucose
472 intolerance and peripheral insulin resistance [6]. Moreover, other studies have proposed that
473 GLUT4 regulated glucose flux in skeletal muscle cells, which also regulated by glycogen
474 production [80]. GLUT4 membrane translocation is regulated by insulin pathways, notably
475 IRS1 [81,82]. Based on this knowledge, in the HFSP group, an increase in Gys1 expression
476 was observed compared to the HF group, which is consistent with GLUT4 expression.
477 However, IRS1 expression is downregulated compared to HF group without negatively

478 affecting GLUT4, while the expression value is equal to control diet. In another biological
479 model, a previous study had reported that PC was able to stimulate the ras-related C3
480 botulinum toxin substrate (Rac1) signaling pathway [83]. Or, in skeletal muscle cells, Rac1 is
481 an independent insulin regulator of GLUT4 gene expression [84]. Due to its content in PC, it
482 could be hypothesized that SLE induced an independent insulin mechanism leading to
483 glycogen synthase activation in skeletal muscle, by activation of Rac1 signaling pathway.
484 This suggests that SLE may exert a protective effect against insulin resistance, as
485 demonstrated with exercise [85] or PC [86]. Interestingly, in the SLE group (HFSP), these
486 effects are similar to those observed in the exercise training group (HFT) concerning the Gys1
487 and IRS1 gene expressions. Independently of its downregulation in the HFT group, it is
488 known that GLUT4 is regularly modulated by exercise stress, thus increasing its turnover rate
489 related to muscle adaptation [87]. Moreover, it has been reported that GLUT4 gene expression
490 increased immediately after the last exercise but then decreased rapidly [88]. In our present
491 experimental protocol, all measurements were performed three days before the last running
492 session, after which adaptation had been completed, explaining the downregulation of the
493 GLUT4 gene expression in the HFT and HFSPT group. The results obtained in the HFSPT
494 group to the HF one, a no significant decrease has been reported for the the IRS1, but
495 measured for GLUT4 gene expression while a significant increase in the GYS1 gene
496 expression was observed. However, as no difference is observed when compared to the HFSP
497 and HFT groups, it can be concluded that there is no cumulative effect of SLE and exercise
498 training on the expression of the studied genes.

499 Regarding genes implicated in lipid metabolism, only the expressions of the Fabp4
500 and CPT1A genes were modified during SLE supplementation or exercise training. The
501 evaluation of Fabp4 gene expression revealed an upregulation in the HF group compared to

502 the control. This gene encodes a protein recognized as a marker of mature adipocytes in
503 muscle and is involved in intramuscular adipose tissue development, leading to muscle
504 atrophy and strength loss [89,90]. Moreover, saturated long-chain fatty acids are known to be
505 captured by the CD36 transporter and transported by Fabp4 in the skeletal muscle cell
506 cytosol; this pathway is enhanced during HFD consumption [91]. Thus, their upregulation is
507 particularly influenced by the diet and SLE supplementation tended to decrease the expression
508 of Fabp4 gene. However, exercise training significantly downregulated Fabp4 expression in
509 both conditions (HFSP and HFSPT groups) compared to the HF group. These results suggest
510 that SLE could play a protective role against intramuscular adipose tissue, but not as
511 effectively as exercise training. Moreover, regardless of the condition, CD36 gene expression
512 remained unchanged, although Fabp4 did. This suggests that exercise and SLE may act
513 directly on fatty acid intracellular transport mechanisms. Interestingly, SLE supplementation
514 upregulated CPT1A expression. It has been reported that CPT1A is an important
515 mitochondrial transporter of long-chain acyl-carnitine from the cytosol to β-oxidation [92]
516 and its expression could be protective against an increased muscle lipid uptake during HFD
517 [93]. Other studies have proposed that CPT1A could induce mitochondrial uncoupling.
518 Indeed, when the proton gradient generated by the electron transport chain is dissipated as
519 heat rather than being used for ATP synthesis, it creates a futile cycle of glucose and fatty acid
520 oxidation [94–96], serving as a protective mechanism against metabolic pathologies
521 associated with HFD, such as metabolic syndrome [97,98]. Moreover, Qiu et al. reported for
522 the first time that CPT1A played an important role in maintaining muscle stem cell
523 homeostasis during muscle proliferation and regeneration [99]. Based on these findings,
524 although no effect of SLE has been reported on CD36 gene expression, the increased CPT1A
525 expression could be linked to an increase in fatty acid oxidation via β-oxidation and may lead

526 to mitochondrial uncoupling or play a role in muscle rebuilding related to CPT1A and stem
527 cell interactions. In combination with exercise training (HFSPT) compared to the HF group,
528 an increase in the CPT1A gene expression is observed without any difference compared to the
529 HFT group. It is known that exercise training can increase CPT1A expression as an adaptive
530 response in muscle metabolism [100,101]. However, in our study, the HFT group without SLE
531 did not show an increase in CPT1A expression. This suggests that SLE might have a direct
532 effect on CPT1A expression, warranting further research to understand the underlying
533 mechanisms.

534 **5. Conclusion**

535 In conclusion, our study demonstrates that SLE supplementation, particularly when combined
536 with physical exercise, has beneficial effects on genes expression of glucose and lipid
537 metabolism in young rats exposed to a HFD. SLE supplementation alone reduced fasting
538 glycemia, upregulated Gys1 and downregulated IRS1 expression, indicating improved insulin
539 sensitivity and enhanced glucose-to-glycogen conversion. Furthermore, exercise training
540 independently improved glycemic control, as evidenced by reduced glycemia and improved
541 glucose tolerance (AUC). Regarding lipid metabolism, SLE supplementation increased TG
542 levels, potentially due to enhanced fat absorption. however, when combined with exercise, it
543 improved the lipid profile by increasing HDL-chol, reducing Non-HDL-chol and lowering the
544 AIP, key indicators of cardiovascular health. Gene expression analysis revealed an
545 upregulation of CPT1A with SLE, suggesting enhanced fatty acid oxidation and a
546 downregulation of Fabp4 with exercise, reflecting a protective effect against intramuscular
547 adipose tissue accumulation. These findings suggest that SLE supplementation, particularly
548 when combined with physical exercise, may serve as a promising strategy to counteract the
549 metabolic disturbances induced by HFD consumption, including improving insulin resistance

and reducing cardiovascular risk factors. Further studies are required to validate these results, better understand the underlying mechanisms and explore the long-term effects of SLE supplementation and exercise on metabolic health.

Acknowledgment

The authors acknowledge Frédérique Guéno and Isabelle Martin for their technical assistance during animal monitoring and tissue sampling.

Sources of Support

This work was supported by the French Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Jordi Vignaud was a recipient fellowship of the Collectivités Locales Mayennaises.

Author Contributions

Jordi Vignaud, conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, writing original draft , writing review and editing; **Céline Loiseau**, conceptualization, methodology, supervision, validation, writing original draft , writing review and editing; **Martine Côme**, investigation, methodology; **Josiane Hérault**, investigation, methodology, writing review and editing; **Claire Mayer**, investigation, writing review and editing; **Olivier Lépine**, supervision, writing review and editing; **Lionel Ulmann**, conceptualization, project administration, supervision, validation, visualization, writing original draft , writing review and editing.

Author Declarations

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.

References

[1] World Health Organization. Obesity and overweight 2024. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight (accessed November 29, 2024).

[2] Friedman JM. Causes and control of excess body fat. Nature 2009;459:340–2. https://doi.org/10.1038/459340a.

[3] Hu S, Wang L, Yang D, Li L, Togo J, Wu Y, et al. Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes Adiposity in Mice. Cell Metabolism 2018;28:415-431.e4. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.06.010.

[4] Gilbert M. Role of skeletal muscle lipids in the pathogenesis of insulin resistance of obesity and type 2 diabetes. Journal of Diabetes Investigation 2021;12:1934–41. https://doi.org/10.1111/jdi.13614.

[5] Lauritzen HPMM. Insulin and Contraction-induced GLUT4 Traffic in Muscle: Insights from a Novel Imaging Approach. Exerc Sport Sci Rev 2013;41:77–86. https://doi.org/10.1097/JES.0b013e318275574c.

[6] Xirouchaki CE, Mangiafico SP, Bate K, Ruan Z, Huang AM, Tedjosiswoyo BW, et al. Impaired glucose metabolism and exercise capacity with muscle-specific glycogen synthase 1 (gys1) deletion in adult mice. Mol Metab 2016;5:221–32. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.01.004.

[7] Kelley DE. Skeletal muscle fat oxidation: timing and flexibility are everything. J Clin Invest 2005;115:1699–702. https://doi.org/10.1172/JCI25758.

[8] Ostman C, Smart NA, Morcos D, Duller A, Ridley W, Jewiss D. The effect of exercise training on clinical outcomes in patients with the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. Cardiovasc Diabetol 2017;16:110. https://doi.org/10.1186/s12933-017-0590-y.

[9] Caponi PW, Lehnen AM, Pinto GH, Borges J, Markoski M, Machado UF, et al. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. Clinics 2013;68:1010–7. https://doi.org/10.6061/clinics/2013(07)20.

[10] Foucaut A-M, Morelle M, Kempf-Lépine A-S, Baudinet C, Meyrand R, Guillemaut S, et al. Feasibility of an exercise and nutritional intervention for weight management during adjuvant treatment for localized breast cancer: the PASAPAS randomized controlled trial. Support Care Cancer 2019;27:3449–61. https://doi.org/10.1007/s00520-019-4658-y.

[11] Krout D, Roemmich JN, Bundy A, Garcia RA, Yan L, Claycombe-Larson KJ. Paternal exercise protects mouse offspring from high-fat-diet-induced type 2 diabetes risk by increasing skeletal muscle insulin signaling. The Journal of Nutritional Biochemistry 2018;57:35–44. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.03.013.

[12] Monteiro PA, Chen KY, Lira FS, Saraiva BTC, Antunes BMM, Campos EZ, et al. Concurrent and aerobic exercise training promote similar benefits in body composition and metabolic profiles in obese adolescents. Lipids Health Dis 2015;14:153. https://doi.org/10.1186/s12944-015-0152-9.

[13] Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile:

622 Review, Synthesis and Recommendations. Sports Med 2014;44:211–21.
623 https://doi.org/10.1007/s40279-013-0110-5.

624 [14] Liao M-T, Liu W-C, Lin F-H, Huang C-F, Chen S-Y, Liu C-C, et al.
625 Intradialytic aerobic cycling exercise alleviates inflammation and improves endothelial
626 progenitor cell count and bone density in hemodialysis patients. Medicine 2016;95:e4134.
627 https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004134.

628 [15] Heo J-W, No M-H, Cho J, Choi Y, Cho E-J, Park D-H, et al. Moderate aerobic
629 exercise training ameliorates impairment of mitochondrial function and dynamics in skeletal
630 muscle of high-fat diet-induced obese mice. The FASEB Journal 2021;35:e21340.
631 https://doi.org/10.1096/fj.202002394R.

632 [16] Greene NP, Lee DE, Brown JL, Rosa ME, Brown LA, Perry RA, et al.
633 Mitochondrial quality control, promoted by PGC-1α, is dysregulated by Western diet-induced
634 obesity and partially restored by moderate physical activity in mice. Physiological Reports
635 2015;3:e12470. https://doi.org/10.14814/phy2.12470.

636 [17] Liu X, Zeng X, Liu W, Lu Y, Cheng J, Chen Y. An Overview of Dietary
637 Supplements on Obesity and Type 2 Diabetes: Efficacy and Mechanisms. Current Drug
638 Metabolism 2021;22:415–40. https://doi.org/10.2174/1389200222666210406110450.

639 [18] Hijová E. Synbiotic Supplements in the Prevention of Obesity and Obesity-
640 Related Diseases. Metabolites 2022;12:313. https://doi.org/10.3390/metabo12040313.

641 [19] Vignaud J, Loiseau C, Hérault J, Mayer C, Côme M, Martin I, et al. Microalgae
642 Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions
643 and Skeletal Muscular Oxidative Stress. Antioxidants 2023;12:1050.
644 https://doi.org/10.3390/antiox12051050.

[20] Hoseini SM, Khosravi-Darani K, Mozafari MR. Nutritional and Medical Applications of Spirulina Microalgae. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 2013;13:1231–7.

[21] Sotiroudis TG, Sotiroudis GT. Health aspects of Spirulina (Arthrospira) microalga food supplement. Journal of the Serbian Chemical Society 2013;78:395–405.

[22] Hernández-Lepe MA, Wall-Medrano A, López-Díaz JA, Juárez-Oropeza MA, Luqueño-Bocardo OI, Hernández-Torres RP, et al. Hypolipidemic Effect of Arthrospira (Spirulina) maxima Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program in Overweight and Obese Men: A Double-Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. Marine Drugs 2019;17:270. https://doi.org/10.3390/md17050270.

[23] Heo M-G, Choung S-Y. Anti-obesity effects of Spirulina maxima in high fat diet induced obese rats via the activation of AMPK pathway and SIRT1. Food Funct 2018;9:4906–15. https://doi.org/10.1039/C8FO00986D.

[24] Ou Y, Lin L, Yang X, Pan Q, Cheng X. Antidiabetic potential of phycocyanin: Effects on KKAy mice. Pharmaceutical Biology 2013;51:539–44. https://doi.org/10.3109/13880209.2012.747545.

[25] Silva-Neto AF, Fratelli C, Pucci VG, Boldarine VT, Ferreira YAM, Telles MM, et al. C-phycocyanin extracted from Spirulina using a green solvent approach presents an anti-obesity characteristic in mice fed a hyperlipidic diet. Journal of Functional Foods 2023;108:105747. https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105747.

[26] Kasbi-Chadli F, Coué M, Aguesse A, Grit I, Souque T, Ferchaud-Roucher V, et al. Spirulina liquid extract prevents metabolic disturbances and improves liver sphingolipids profile in hamster fed a high-fat diet. Eur J Nutr 2021;60:4483–94.

668 https://doi.org/10.1007/s00394-021-02589-x.

669 [27] Coué M, Tesse A, Falewée J, Aguesse A, Croyal M, Fizanne L, et al. Spirulina
670 Liquid Extract Protects against Fibrosis Related to Non-Alcoholic Steatohepatitis and
671 Increases Ursodeoxycholic Acid. Nutrients 2019;11:194. https://doi.org/10.3390/nu11010194.

672 [28] Vignaud J, Loiseau C, Côme M, Martin I, Rasoanarivo R, Hérault J, et al.
673 Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic
674 Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats. Nutrients 2025;17:283.
675 https://doi.org/10.3390/nu17020283.

676 [29] Mayer C, Côme M, Ulmann L, Martin I, Zittelli GC, Faraloni C, et al. The
677 Potential of the Marine Microalga Diacronema lutheri in the Prevention of Obesity and
678 Metabolic Syndrome in High-Fat-Fed Wistar Rats. Molecules 2022;27:4246.
679 https://doi.org/10.3390/molecules27134246.

680 [30] Gaby AR. Adverse Effects of Dietary Fructose 2005;10.

681 [31] Sanders FWB, Griffin JL. De novo lipogenesis in the liver in health and
682 disease: more than just a shunting yard for glucose. Biological Reviews 2016;91:452–68.
683 https://doi.org/10.1111/brv.12178.

684 [32] Schwarz J-M, Noworolski SM, Wen MJ, Dyachenko A, Prior JL, Weinberg
685 ME, et al. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. J
686 Clin Endocrinol Metab 2015;100:2434–42. https://doi.org/10.1210/jc.2014-3678.

687 [33] Faieta M, Neri L, Sacchetti G, Di Michele A, Pittia P. Role of saccharides on
688 thermal stability of phycocyanin in aqueous solutions. Food Research International
689 2020;132:109093. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109093.

690 [34] Hadiyanto, Christwardana M, Sutanto H, Suzery M, Amelia D, Aritonang RF.
691 Kinetic study on the effects of sugar addition on the thermal degradation of phycocyanin from
692 *Spirulina* sp. Food Bioscience 2018;22:85–90. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.01.007.

693 [35] Huo Y, Hou X, Yu Y, Wen X, Ding Y, Li Y, et al. Improving the Thermal and
694 Oxidative Stability of Food-Grade Phycocyanin from Arthrospira platensis by Addition of
695 Saccharides and Sugar Alcohols. Foods 2022;11:1752.
696 https://doi.org/10.3390/foods11121752.

697 [36] Lee S-H, Lee JE, Kim Y, Lee S-Y. The Production of High Purity Phycocyanin
698 by Spirulina platensis Using Light-Emitting Diodes Based Two-Stage Cultivation. Appl
699 Biochem Biotechnol 2016;178:382–95. https://doi.org/10.1007/s12010-015-1879-5.

700 [37] Deng R, Chow T-J. Hypolipidemic, Antioxidant, and Antiinflammatory
701 Activities of Microalgae Spirulina. Cardiovascular Therapeutics 2010;28:e33–45.
702 https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00200.x.

703 [38] Balasekaran G, Loh MK, Boey P, Ng YC. Determination, measurement, and
704 validation of maximal aerobic speed. Sci Rep 2023;13:8006. https://doi.org/10.1038/s41598-
705 023-31904-1.

706 [39] Fadaei Chafy MR, Bagherpour Tabalvandani MM, Elmieh A, Arabzadeh E.
707 Determining the range of aerobic exercise on a treadmill for male Wistar rats at different ages:
708 A pilot study. Journal of Exercise & Organ Cross Talk 2022;2:96–100.
709 https://doi.org/10.22034/jeoct.2022.350369.1047.

710 [40] Cardenia V, Rodriguez-Estrada MT, Lorenzini A, Bandini E, Angeloni C,
711 Hrelia S, et al. Effect of broccoli extract enriched diet on liver cholesterol oxidation in rats
712 subjected to exhaustive exercise. J Steroid Biochem Mol Biol 2017;169:137–44.

https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.04.005.

[41] Kryściak K, Majerczak J, Kryściak J, Łochyński D, Kaczmarek D, Drzymała-Celichowska H, et al. Adaptation of motor unit contractile properties in rat medial gastrocnemius to treadmill endurance training: Relationship to muscle mitochondrial biogenesis. PLOS ONE 2018;13:e0195704. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195704.

[42] Ferreira JCB, Rolim NPL, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007;34:760–5. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x.

[43] Carvalho CD de, Filho CK, Rocha AD da, Silva ASR, Papoti M. Glycogen Kinetics of Wistar Rats: Different Exercise Intensities and Tissue Analyzed Influence. International Journal of Exercise Science 2022;15:289–99. https://doi.org/10.1038/s41598-023-36797-3.

[44] Dong GJ, Lv CX, Li KF. The Changes of Ultrastructure and Proteome Induced by Repeated Eccentric Exercise on of Rat Skeletal Muscle. Applied Mechanics and Materials 2014;472:792–800. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.472.792.

[45] Silva E da, Maldonado IR dos SC, Matta SLP da, Maia GC, Bozi LHM, Silva KA da, et al. Treinamento em natação com baixa intensidade não protege músculo esquelético contra lesões induzidas por exercício exaustivo em ratos. Rev Bras Med Esporte 2011;17:207–11. https://doi.org/10.1590/S1517-86922011000300012.

[46] Carr SS, Hooper AJ, Sullivan DR, Burnett JR. Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. Pathology 2019;51:148–54. https://doi.org/10.1016/j.pathol.2018.11.006.

735 [47] Askin L, Tanriverdi O. Is the Atherogenic Index of Plasma (AIP) a
736 Cardiovascular Disease Marker? Cor et Vasa 2023;65:100–3.
737 https://doi.org/10.33678/cor.2022.085.

738 [48] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-
739 time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001;25:402–8.
740 https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262.

741 [49] Mayer C, Côme M, Ulmann L, Chini Zittelli G, Faraloni C, Nazih H, et al.
742 Preventive Effects of the Marine Microalga Phaeodactylum tricornutum, Used as a Food
743 Supplement, on Risk Factors Associated with Metabolic Syndrome in Wistar Rats. Nutrients
744 2019;11:1069. https://doi.org/10.3390/nu11051069.

745 [50] Ichimura M, Kato S, Tsuneyama K, Matsutake S, Kamogawa M, Hirao E, et al.
746 Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of
747 metabolic syndrome. Nutrition Research 2013;33:397–405.
748 https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.03.006.

749 [51] Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose
750 and fructose on peripheral and central appetite signals. Regulatory Peptides 2008;150:26–32.
751 https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.06.008.

752 [52] Moradi S, Zobeiri M, Feizi A, Clark CCT, Entezari MH. The effects of
753 spirulina (Arthrospira platensis) supplementation on anthropometric indices, blood pressure,
754 sleep quality, mental health, fatigue status and quality of life in patients with ulcerative colitis:
755 A randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. Int J Clin Pract 2021;75:e14472.
756 https://doi.org/10.1111/ijcp.14472.

757 [53] Zeinalian R, Farhangi MA, Shariat A, Saghafi-Asl M. The effects of Spirulina

758 Platensis on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial
759 growth factor (VEGF) in obese individuals: a randomized double blinded placebo controlled
760 trial. BMC Complement Altern Med 2017;17:225. https://doi.org/10.1186/s12906-017-1670-
761 y.

762 [54] Ropelle ER, Teixeira AM, Pauli JR. Physical Exercise: A Versatile Anti-
763 Inflammatory Tool Involved in the Control of Hypothalamic Satiety Signaling 2021.

764 [55] Marques CMM, Motta VF, Torres TS, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA.
765 Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty
766 liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. Braz J Med Biol Res 2010;43:467–75.
767 https://doi.org/10.1590/S0100-879X2010007500030.

768 [56] Gao Y, Liao G, Xiang C, Yang X, Cheng X, Ou Y. Effects of phycocyanin on
769 INS-1 pancreatic β-cell mediated by PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway. International
770 Journal of Biological Macromolecules 2016;83:185–94.
771 https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.054.

772 [57] Ziyaei K, Abdi F, Mokhtari M, Daneshmehr MA, Ataie Z. Phycocyanin as a
773 nature-inspired antidiabetic agent: A systematic review. Phytomedicine 2023;119:154964.
774 https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154964.

775 [58] Sheu M-J, Hsieh Y-Y, Lai C-H, Chang C-C, Wu C-H. Antihyperlipidemic and
776 Antioxidant Effects of C-phycocyanin in Golden Syrian Hamsters Fed with a
777 Hypercholesterolemic Diet. Journal of Traditional and Complementary Medicine 2013;3:41–
778 7. https://doi.org/10.4103/2225-4110.106545.

779 [59] Coué M, Croyal M, Habib M, Castellano B, Agueesse A, Grit I, et al. Perinatal
780 Administration of C-Phycocyanin Protects Against Atherosclerosis in apoE-Deficient Mice by

781 Modulating Cholesterol and Trimethylamine-N-Oxide Metabolisms. Arteriosclerosis,
782 Thrombosis, and Vascular Biology 2021;41:e512–23.
783 https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.316848.

784 [60] Xie Y, Li W, Zhu L, Zhai S, Qin S, Du Z. Effects of phycocyanin in modulating
785 the intestinal microbiota of mice. MicrobiologyOpen 2019;8:e00825.
786 https://doi.org/10.1002/mbo3.825.

787 [61] Muscella A, Stefàno E, Lunetti P, Capobianco L, Marsigliante S. The
788 Regulation of Fat Metabolism during Aerobic Exercise. Biomolecules 2020;10:1699.
789 https://doi.org/10.3390/biom10121699.

790 [62] Dmytriv TR, Storey KB, Lushchak VI. Intestinal barrier permeability: the
791 influence of gut microbiota, nutrition, and exercise. Front Physiol 2024;15.
792 https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1380713.

793 [63] Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, et al. HDL
794 Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. New England
795 Journal of Medicine 2007;357:1301–10. https://doi.org/10.1056/NEJMoa064278.

796 [64] Andraski AB, Sacks FM, Aikawa M, Singh SA. Understanding HDL
797 Metabolism and Biology Through In Vivo Tracer Kinetics. Arteriosclerosis, Thrombosis, and
798 Vascular Biology 2024;44:76–88. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.319742.

799 [65] Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY, Appel LJ, Creager MA, Kris-Etherton
800 PM, et al. Dietary Fats and Cardiovascular Disease: A Presidential Advisory From the
801 American Heart Association. Circulation 2017;136:e1–23.
802 https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000510.

803 [66] Niroumand S, Khajedaluee M, Khadem-Rezaiyan M, Abrishami M, Juya M,
804 Khodaee G, et al. Atherogenic Index of Plasma (AIP): A marker of cardiovascular disease.
805 Med J Islam Repub Iran 2015;29:240.

806 [67] Vichaiwong K, Henriksen EJ, Toskulkao C, Prasannarong M, Bupha-Intr T,
807 Saengsirisuwan V. Attenuation of oxidant-induced muscle insulin resistance and p38 MAPK
808 by exercise training. Free Radic Biol Med 2009;47:593–9.
809 https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.036.

810 [68] Blair AS, Hajduch E, Litherland GJ, Hundal HS. Regulation of glucose
811 transport and glycogen synthesis in L6 muscle cells during oxidative stress. Evidence for
812 cross-talk between the insulin and SAPK2/p38 mitogen-activated protein kinase signaling
813 pathways. J Biol Chem 1999;274:36293–9. https://doi.org/10.1074/jbc.274.51.36293.

814 [69] Kim JS, Saengsirisuwan V, Sloniger JA, Teachey MK, Henriksen EJ. Oxidant
815 stress and skeletal muscle glucose transport: roles of insulin signaling and p38 MAPK. Free
816 Radic Biol Med 2006;41:818–24. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.05.031.

817 [70] Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1α,
818 Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. Oxidative Medicine
819 and Cellular Longevity 2020;2020:1452696. https://doi.org/10.1155/2020/1452696.

820 [71] Jheng H-F, Tsai P-J, Guo S-M, Kuo L-H, Chang C-S, Su I-J, et al.
821 Mitochondrial Fission Contributes to Mitochondrial Dysfunction and Insulin Resistance in
822 Skeletal Muscle. Molecular and Cellular Biology 2012;32:309–19.
823 https://doi.org/10.1128/MCB.05603-11.

824 [72] Putti R, Sica R, Migliaccio V, Lionetti L. Diet impact on mitochondrial
825 bioenergetics and dynamics. Front Physiol 2015;6. https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00109.

826 [73] Pinho RA, Sepa-Kishi DM, Bikopoulos G, Wu MV, Uthayakumar A, Mohasses
827 A, et al. High-fat diet induces skeletal muscle oxidative stress in a fiber type-dependent
828 manner in rats. Free Radic Biol Med 2017;110:381–9.
829 https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.07.005.

830 [74] Liu R, Qin S, Li W. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism.
831 Biomedicine & Pharmacotherapy 2022;153:113362.
832 https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113362.

833 [75] Joseph A-M, Pilegaard H, Litvintsev A, Leick L, Hood DA. Control of gene
834 expression and mitochondrial biogenesis in the muscular adaptation to endurance exercise.
835 Essays in Biochemistry 2006;42:13–29. https://doi.org/10.1042/bse0420013.

836 [76] Olesen J, Kiilerich K, Pilegaard H. PGC-1α-mediated adaptations in skeletal
837 muscle. Pflugers Arch - Eur J Physiol 2010;460:153–62. https://doi.org/10.1007/s00424-010-
838 0834-0.

839 [77] Gomez-Cabrera MC, Salvador-Pascual A, Cabo H, Ferrando B, Viña J. Redox
840 modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the
841 benefits of exercise training? Free Radic Biol Med 2015;86:37–46.
842 https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.006.

843 [78] St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S, et al. Suppression
844 of Reactive Oxygen Species and Neurodegeneration by the PGC-1 Transcriptional
845 Coactivators. Cell 2006;127:397–408. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.024.

846 [79] Puengpan S, Phetrungnapha A, Sattayakawee S, Tunsophon S. Phycocyanin
847 attenuates skeletal muscle damage and fatigue via modulation of Nrf2 and IRS-1/AKT/mTOR
848 pathway in exercise-induced oxidative stress in rats. PLOS ONE 2024;19:e0310138.

849 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0310138.

850 [80] Pederson BA, Schroeder JM, Parker GE, Smith MW, DePaoli-Roach AA,
851 Roach PJ. Glucose Metabolism in Mice Lacking Muscle Glycogen Synthase. Diabetes
852 2005;54:3466–73. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.12.3466.

853 [81] Guma A, Zierath JR, Wallberg-Henriksson H, Klip A. Insulin induces
854 translocation of GLUT-4 glucose transporters in human skeletal muscle. American Journal of
855 Physiology-Endocrinology and Metabolism 1995;268:E613–22.
856 https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.4.E613.

857 [82] Palanivel R, Maida A, Liu Y, Sweeney G. Regulation of insulin signalling,
858 glucose uptake and metabolism in rat skeletal muscle cells upon prolonged exposure to
859 resistin. Diabetologia 2006;49:183–90. https://doi.org/10.1007/s00125-005-0060-z.

860 [83] Madhyastha HK, Radha KS, Nakajima Y, Omura S, Maruyama M. uPA
861 dependent and independent mechanisms of wound healing by C-phycocyanin. Journal of
862 Cellular and Molecular Medicine 2008;12:2691–703. https://doi.org/10.1111/j.1582-
863 4934.2008.00272.x.

864 [84] Chiu TT, Sun Y, Koshkina A, Klip A. Rac-1 Superactivation Triggers Insulin-
865 independent Glucose Transporter 4 (GLUT4) Translocation That Bypasses Signaling Defects
866 Exerted by c-Jun N-terminal kinase (JNK)- and Ceramide-induced Insulin Resistance *.
867 Journal of Biological Chemistry 2013;288:17520–31.
868 https://doi.org/10.1074/jbc.M113.467647.

869 [85] Hawley JA. Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and
870 treatment of insulin resistance. Diabetes/Metabolism Research and Reviews 2004;20:383–93.
871 https://doi.org/10.1002/dmrr.505.

[86] Hao S, Li F, Li Q, Yang Q, Zhang W. Phycocyanin Protects against High Glucose High Fat Diet Induced Diabetes in Mice and Participates in AKT and AMPK Signaling. Foods 2022;11:3183. https://doi.org/10.3390/foods11203183.

[87] Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and Skeletal Muscle Glucose Uptake. Physiological Reviews 2013;93:993–1017. https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2012.

[88] Kuo, Browning, Ivy. Regulation of GLUT4 protein expression and glycogen storage after prolonged exercise. Acta Physiologica Scandinavica 1999;165:193–201. https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.1999.00489.x.

[89] Manini TM, Clark BC, Nalls MA, Goodpaster BH, Ploutz-Snyder LL, Harris TB. Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults2. The American Journal of Clinical Nutrition 2007;85:377–84. https://doi.org/10.1093/ajcn/85.2.377.

[90] Guilhot C, Fovet T, Delobel P, Dargegen M, Jasmin BJ, Brioche T, et al. Severe Muscle Deconditioning Triggers Early Extracellular Matrix Remodeling and Resident Stem Cell Differentiation into Adipocytes in Healthy Men. International Journal of Molecular Sciences 2022;23:5489. https://doi.org/10.3390/ijms23105489.

[91] Liu J, Zhao H, Yang L, Wang X, Yang L, Xing Y, et al. The role of CD36-Fabp4-PPARγ in skeletal muscle involves insulin resistance in intrauterine growth retardation mice with catch-up growth. BMC Endocr Disord 2022;22:10. https://doi.org/10.1186/s12902-021-00921-4.

[92] Schlaepfer IR, Joshi M. CPT1A-mediated Fat Oxidation, Mechanisms, and Therapeutic Potential. Endocrinology 2020;161:bqz046.

https://doi.org/10.1210/endocr/bqz046.

[93] Cavaliere G, Trinchese G, Bergamo P, De Filippo C, Mattace Raso G, Gifuni G, et al. Polyunsaturated Fatty Acids Attenuate Diet Induced Obesity and Insulin Resistance, Modulating Mitochondrial Respiratory Uncoupling in Rat Skeletal Muscle. PLOS ONE 2016;11:1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149033.

[94] Terada H. Uncouplers of oxidative phosphorylation. Environmental Health Perspectives 1990;87:213–8. https://doi.org/10.1289/ehp.9087213.

[95] Tseng Y-H, Cypess AM, Kahn CR. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. Nat Rev Drug Discov 2010;9:465–82. https://doi.org/10.1038/nrd3138.

[96] Nedergaard J, Ricquier D, Kozak LP. Uncoupling proteins: current status and therapeutic prospects. EMBO Reports 2005;6:917–21. https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400532.

[97] Fisler JS, Warden CH. Uncoupling proteins, dietary fat and the metabolic syndrome. Nutr Metab (Lond) 2006;3:38. https://doi.org/10.1186/1743-7075-3-38.

[98] Calderon-Dominguez M, Sebastián D, Fucho R, Weber M, Mir JF, García-Casarrubios E, et al. Carnitine Palmitoyltransferase 1 Increases Lipolysis, UCP1 Protein Expression and Mitochondrial Activity in Brown Adipocytes. PLOS ONE 2016;11:e0159399. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159399.

[99] Qiu J, Yue F, Kim KH, Chen X, Khedr MA, Chen J, et al. Overexpression of CPT1A disrupts the maintenance and regenerative function of muscle stem cells. The FASEB Journal 2024;38:e70071. https://doi.org/10.1096/fj.202400947R.

[100] Henique C, Mansouri A, Vavrova E, Lenoir V, Ferry A, Esnous C, et al.

Increasing mitochondrial muscle fatty acid oxidation induces skeletal muscle remodeling toward an oxidative phenotype. The FASEB Journal 2015;29:2473–83. https://doi.org/10.1096/fj.14-257717.

[101] Mohammadi A, Hosseinpour Delavar S, Zabet A, Bagzadeh M, Mohammadi F. Effects of resistance, endurance, and concurrent exercise on carnitine palmitoyltransferases 1, 2 and fatigue index in obese diabetic rats. JEOCT 2024;4. https://doi.org/10.22122/jeoct.2024.469370.1117.

[102] Benoit B, Plaisancié P, Awada M, Géloën A, Estienne M, Capel F, et al. High-fat diet action on adiposity, inflammation, and insulin sensitivity depends on the control low-fat diet. Nutrition Research 2013;33:952–60. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.07.017.

Legends to Figures

Figure 1

Effect of 8-week supplementation with *Spirulina* liquid extract on bodyweight and nutritional parameters in experimental rats submitted a high-fat diet and exercise training. The *Spirulina* liquid extract increases water intake, which leads to an increase in calorie intake without weight gain. (A) Bodyweight, (B) water intake, (C) food intake and (D) calorie intake. The data represented at week 4 and 8, are the mean ± SEM with n = 6-8 rats per group for bodyweight, and n = 8 for nutritional parameters. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). Control group (C), high fat diet group (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT), HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT), bodyweight (BW) .

Figure 2

Evaluation of the effects of *Spirulina* liquid extract on glucose tolerance in experimental rats submitted a 8-week high-fat diet and exercise training. The combination of *Spirulina* liquid extract and exercise shows a faster reduction in the glycemic peak at 15 minutes after glucose injection compared to exercise alone, making the glycemia regulation more efficient than exercise alone. (A) Glycemic response (mg/dL) over a 120 minute period following glucose administration, glycemia levels were measured at 0, 15-, 30-, 60-, and 120 minutes post-glucose administration. The data are expressed as mean ± SEM with n = 6-8 rats per group. The following symbols indicate a statistically differences ($p < 0.05$): & vs HF, # vs HFSP and $ vs HFT. (B) The AUC of the glycemic response curves are expressed in arbitrary units (a.u.), data are expressed as mean ± SEM with n = 6-8 rats per

group. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). Control group (C), high fat diet group (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT), HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT).

Figure 3

Effect of *Spirulina* liquid extract on activated oxidative pathways in the soleus muscle of rats fed a high-fat diet and submitted an exercise training for 8 weeks. The mRNA expression of p38 MAPK (a) and PGC1α (b) were evaluated. The *Spirulina* liquid extract, the exercise and their combination both decrease the gene expression of P38 MAPK, an oxidative-sensitive protein. The PGC1α gene expression is reduced in both Spirulysat ® supplemented groups, corresponding to less need to counteract the effects of the high-fat diet. The data are expressed as mean ± SEM. *corresponds to significant comparison between C vs HF and different letters (a>b>c) indicate statistically significant differences between HF groups ($p<0.05$). Control group (C), high fat diet group (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT), HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT), p38 Mitogen-Activated Protein Kinase (P38 MAPK), Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha (PGC1α).

Figure 4

Effect of *Spirulina* liquid extract on metabolism glucose pathways in the soleus muscle of rats fed a high-fat diet and submitted an exercise training for 8 weeks. The mRNA expression of IRS1 (A), GLUT4 (B), and Gys1 (C) were evaluated. Both Spirulysat ® and exercise decrease the expression of genes related to glucose absorption,

counterbalancing the effects of a high-fat diet. Meanwhile, genes involved in glucose-to-glycogen transformation are increased in skeletal muscle that could lead to better glucose homeostasis and tolerance. The data are expressed as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). Control group (C), high fat diet group (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT), HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT), Insulin Receptor Substrate 1 (IRS1), Glucose Transporter Type 4 (GLUT4), Glycogen Synthase 1 (Gys1).

Figure 5

Effect of *Spirulina* liquid extract on metabolism fatty acid pathways in the soleus muscle of rats fed a high-fat diet and submitted an exercise training for 8 weeks. The mRNA expression of CD36 (A), Fabp4 (B), and CPT1A (C) were evaluated. The fatty acid transport genes are not modified. However, the CPT1A gene expression, which is involved in fatty acid oxidation transport into mitochondria, increases with the Spirulysat ®. This could lead to mitochondrial uncoupling for dissipating energy in the form of heat and protect against lipotoxicity induced by high fat diet. The data are expressed as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). Control group (C), high fat diet group (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT), HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT), Cluster of Differentiation 36 (CD36), Fatty Acid Binding Protein 4 (Fabp4), Carnitine Palmitoyltransferase 1A (CPT1A).

Tables

Table 1

Manufacturer formula of ingredients incorporated into the diets for feeding the male Wistar rats [102].

Ingredients	**Control Diet (A04) (g/kg)**	**Ingredients**	**High Fat Diet (HF260) (g/kg)**
Barley	391	Anhydrous butter	333
Wheat	250	Acid casein	228
Corn	150	Maltodextrin	170
Soybean meal	80	Sucrose	166
Wheat bran	50	Soybean oil	25
Hydrolyzed fish proteins	40	Premix minerals AIN93M_G	45.5
Dicalcium phosphate	12	Premix vitamins AIN93M_G	13
Calcium carbonate	10	Sodium bicarbonate	10.5

Premix minerals oligo bicarbonate	10	Potassium citrate	4
Premix vitamins A03/A04	7	Choline bitartrate	2
		DL-methionine	2
		Butylhydroxytoluene	0.02

Table 2

Primer sequences for the Real-time PCR reaction

Genes	Abbreviations	Forward primers	Reverse primers
P38 Mitogen-Activated Protein Kinases	P38MAPK	TGCCAGGAATGGAGCCACAT	CATGGAGAAAACTGCCGCCC
Carnitine Palmitoyltransférase 1A	CPT1A	AGCTGGATCTGGGAAACGGG	TCGATCAATGTGGGGAGGCC
Fatty acid binding protein 4	Fabp4	GCTGTACTGTCTGGGCCTCA	ATGAGAGGGTGGAGGTGCAG
Cluster of Differentiation 36	CD36	ACTAAGCTGTTTGTGTGCCCC	ATCATCGAGTGGTGCTACTGGT
Glucose Transporter 4	GLUT4	TTGACCAGATCTCGGCCACC	AGTGCTGCGAGGAAAGGAGG
Glycogen synthase 1	Gys1	ACCCCATTCCCTGCCTGTTC	GCGATCCAAGAAAGGCACGG
Insulin Receptor Substrate 1	IRS1	GCACCTCTCATTCAGCCCCT	CATGCAGCGTTTGTGGACCA
PPARG Coactivator 1 alpha	PGC1α	TTCCAGAAGCTCCAGTGCCC	CCTGCTCAGCCATGCCTACT
Tubulin alpha 1	Tubα	CCACTTCCCTCTGGCCACTT	GGGACCACATCACCACGGTA

Table 3

Effect sizes (f) and statistical power for each variable

Variable	Effect size f	Power
Bodyweight	1.16	0.99
Drinking water	0.90	0.91
Food intake	2.94	1.00
Calories intake	3.39	1.00
Area under curve (GTT)	0.92	0.92
Plasma triglycerides	0,24	0.11
Plasma cholesterol	0.73	0.74
Plasma HDL-cholestérol	1.26	0.99
Non-HDL-cholesterol	0.83	0.84
AIP	1.50	0.99
Glycemia	1.03	0.96
Insulin	0,77	0.80
P38 MAPK	1.57	0.90
PGC1α	1.61	0,90
IRS1	0.87	0.88
GLUT4	0.95	0.94
Gys1	0.83	0.85
CD36	0.34	0.18
Fabp4	1.62	0.99
CPT1A	1.09	0.98

This table represents the statistical power calculated from the effect size for each measured variable in the study. When the statistical power is between 0.8 and 1, the statistical test used is considered as robust and supports the identified differences. AIP**,** atherogenic index of plasma; CD36: cluster of differentiation 36**;** CPT1A, carnitine palmitoyltransferase

1A; Fabp4, fatty acid-binding protein 4; GLUT4, glucose transporter type 4; GTT, glucose tolerance test; Gys1, glycogen synthase 1; IRS1, insulin receptor substrate 1; P38MAPK, P38 mitogen-activated protein kinase; PGC1α, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha.

Table 4

Rat plasma lipid profile, glucose and insulin levels.

Plasma parameters	C	HF	HFSP	HFT	HFSPT	n
TG (mmol/L)	2.7 ± 0.4^{ab}	2.2 ± 0.2^{b}	4.2 ± 0.7^{a}	2.6 ± 0.4^{ab}	2.2 ± 0.2^{b}	7-8
T-Chol (mmol/L)	1.6 ± 0.1^{a}	1.2 ± 0.1^{a}	1.5 ± 0.1^{a}	1.3 ± 0.05^{a}	1.4 ± 0.2^{a}	6-8
HDL-Chol (mmol/L)	0.48 ± 0.02^{ab}	0.34 ± 0.03^{bc}	0.47 ± 0.06^{ab}	0.25 ± 0.03^{c}	0.55 ± 0.03^{a}	6-8
Non HDL-Chol (mmol/L)	1.09 ± 0.08^{a}	0.87 ± 0.06^{ab}	1.06 ± 0.07^{a}	1.08 ± 0.06^{a}	0.66 ± 0.07^{b}	7-8
AIP	0.80 ± 0.05^{ab}	0.82 ± 0.04^{ab}	0.93 ± 0.08^{a}	1.15 ± 0.10^{a}	0.59 ± 0.04^{b}	6-8
Glycemia (mg/dL)	60.8 ± 1.3^{ab}	65.2 ± 2.5^{a}	54.7 ± 2.3^{bc}	53.0 ± 1.8^{bc}	51.5 ± 2.2^{c}	6-8
Insulin (µIU/mL)	34.9 ± 3.3^{b}	57.1 ± 3.0^{a}	67.9 ± 8.4^{a}	65.7 ± 7.7^{ab}	74.7 ± 15.0^{ab}	5-8

This table represents the plasma concentrations of triglycerides (TG), total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-chol), non HDL-cholesterol (non HDL-chol), glucose and insulin. The atherogenic index of plasma (AIP) has been determined with the TG and HDL-chol values. The groups include sedentary and control diet (C), high fat diet (HF), HF with *Spirulina* liquid extract supplementation (HFSP), HF with exercise training (HFT) and HFT with *Spirulina* liquid extract (HFSPT). The data are expressed as mean ± SEM, n=5-8 per group. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

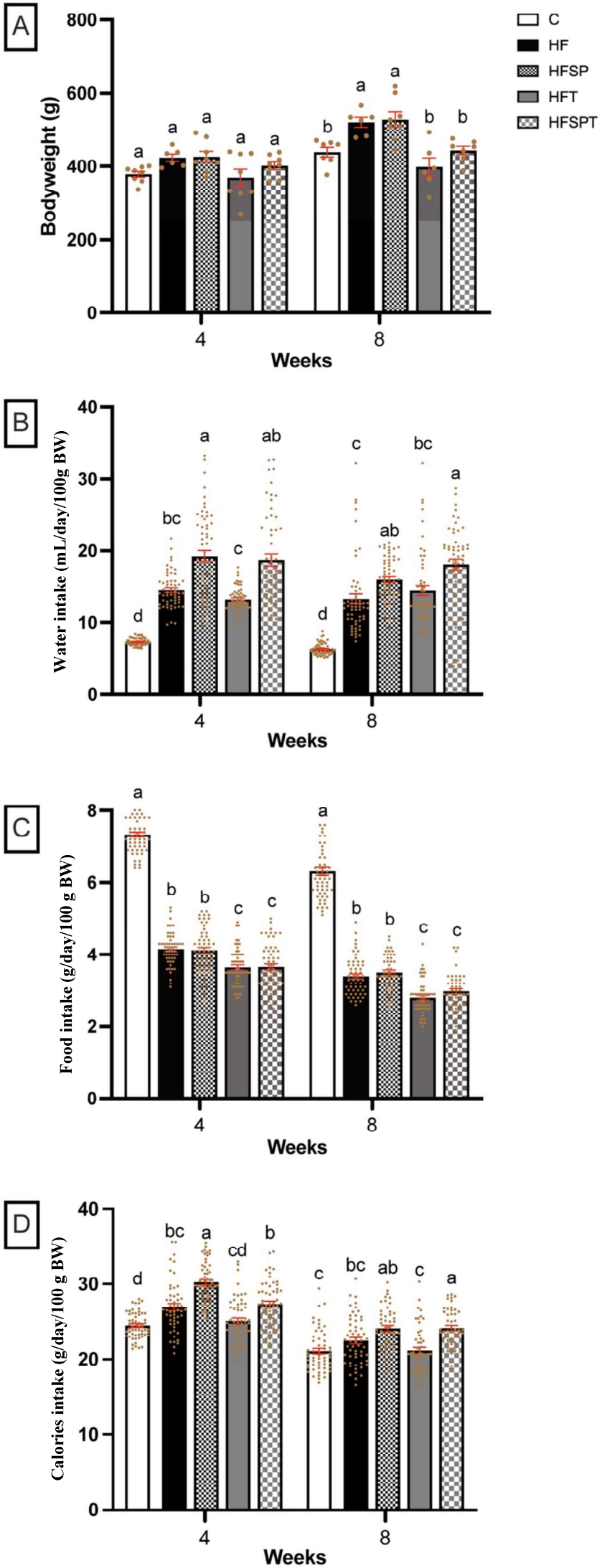

A
Bodyweight (g)
800
600
400
200
0
4
8
Weeks
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
B
Water intake (mL/day/100g BW)
40
30
20
10
0
4
8
Weeks
C
Food intake (g/day/100 g BW)
8
6
4
2
0
4
8
Weeks
D
Calories intake (g/day/100 g BW)
40
30
20
10
0
4
8
Weeks

Figure 1

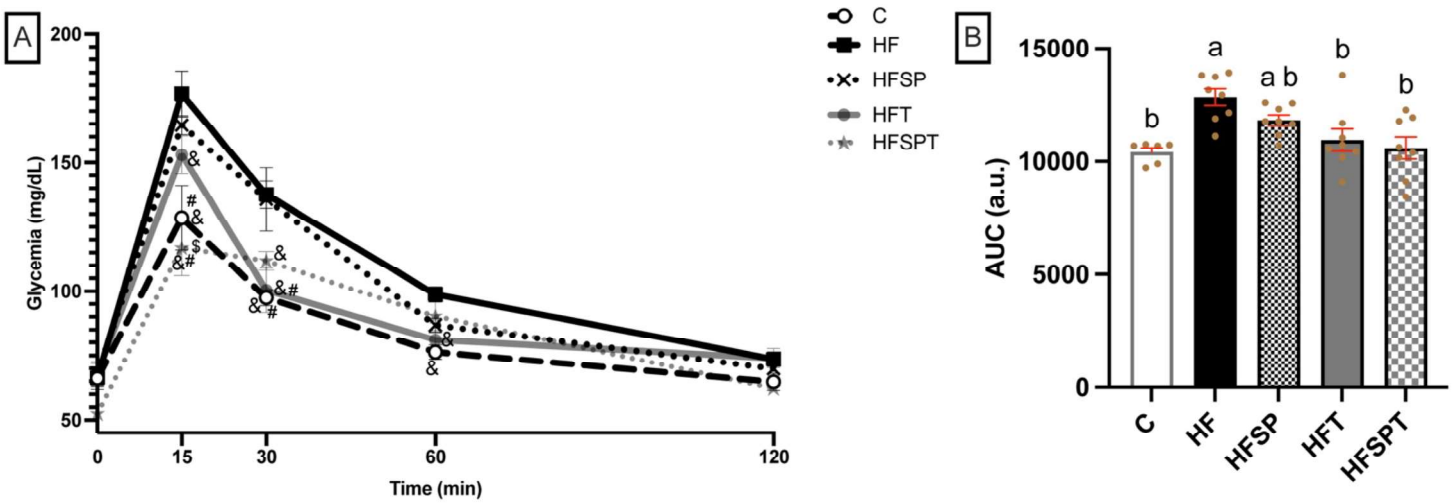

A
Glycemia (mg/dL)
200
150
100
50
0
15
30
60
120
Time (min)
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
B
AUC (a.u.)
15000
10000
5000
0
a
b
a b
b
b
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT

Figure 2

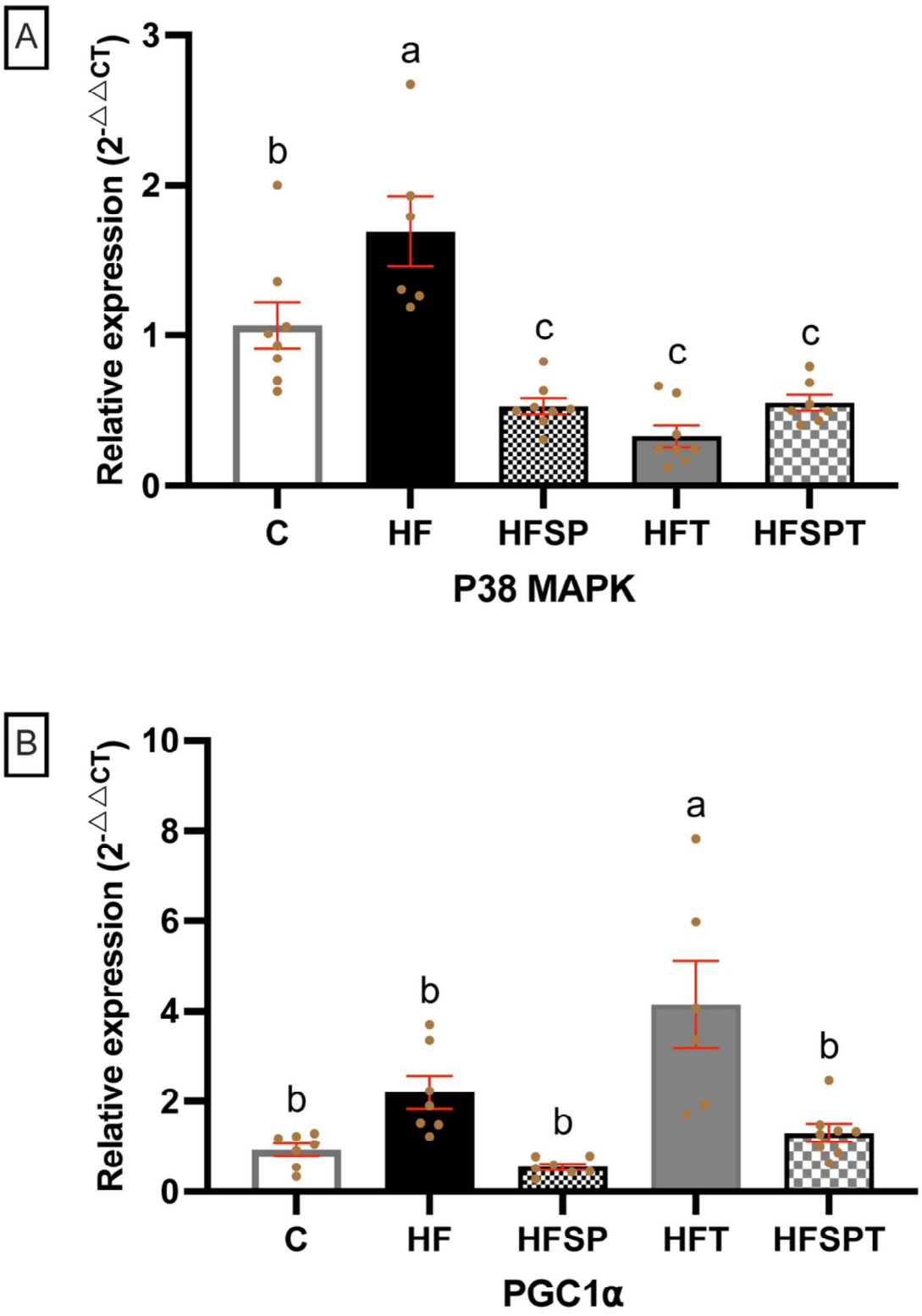
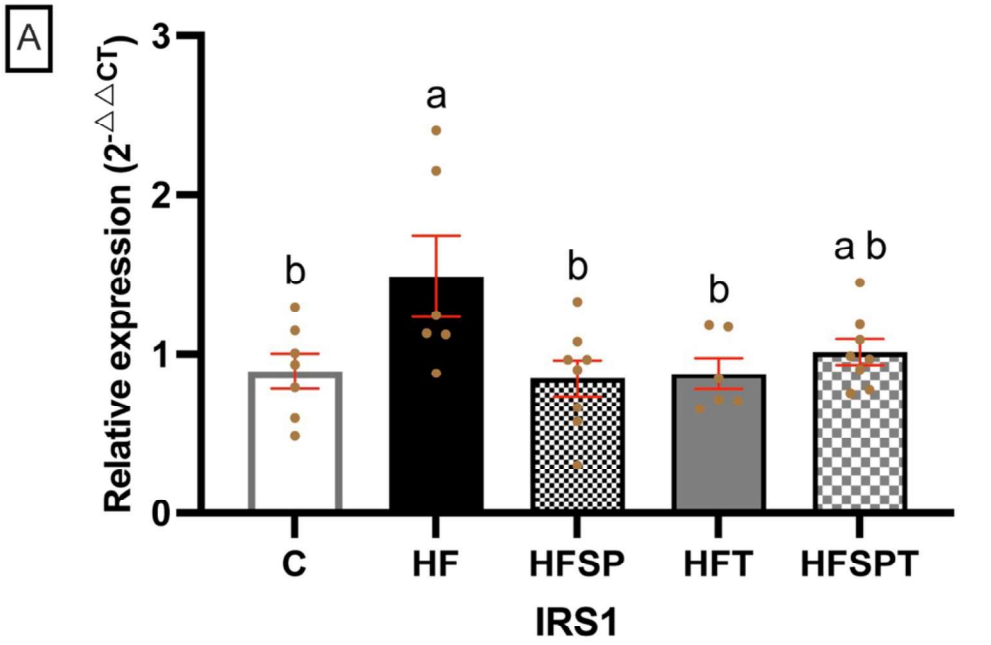

A
Relative expression (2-△△CT)
3
2
1
0
a
b
c
c
c
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
P38 MAPK
B
Relative expression (2-△△CT)
10
8
6
4
2
0
a
b
b
b
b
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
PGC1α

Figure 3


A
Relative expression (2-△△CT)
3
2
1
0
a
b
b
b
a b
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
IRS1

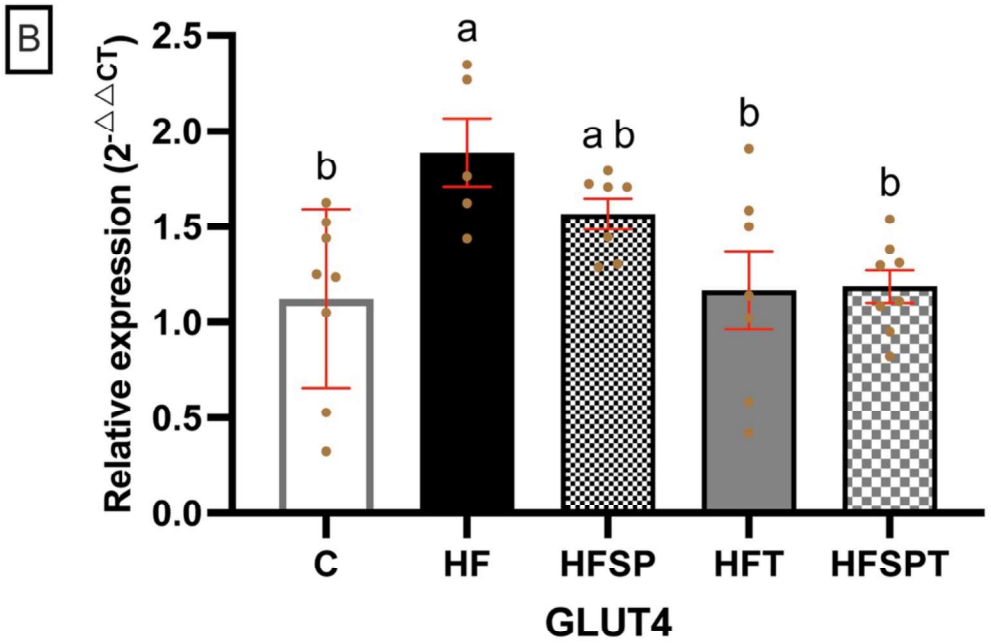
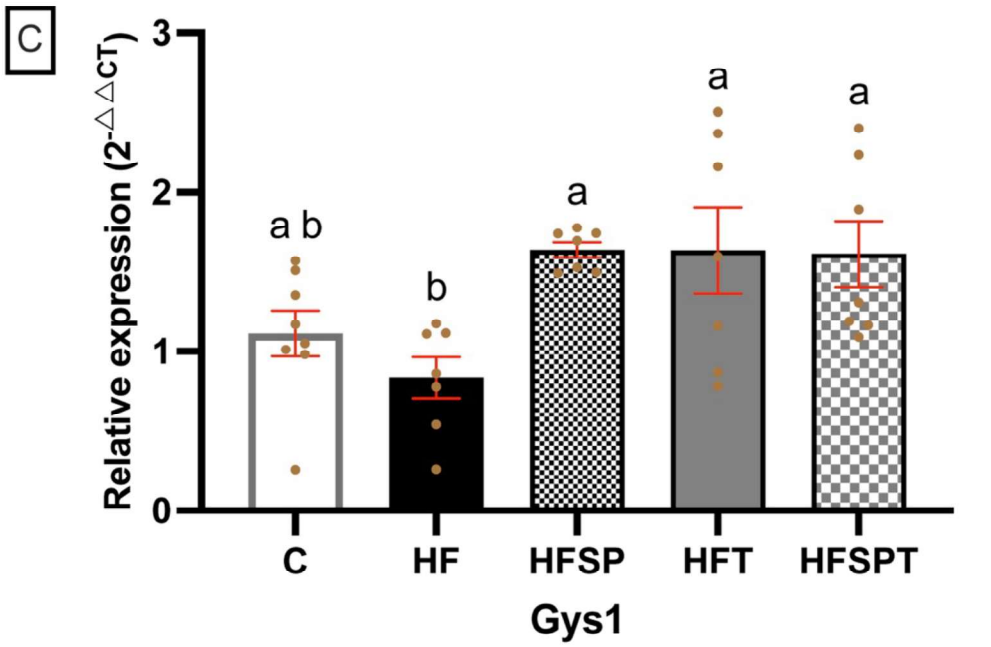

B
Relative expression (2-△△CT)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
a
b
a b
b
b
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
GLUT4

Figure 4


C
Relative expression (2-△△CT)
3
2
1
0
a b
b
a
a
a
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
Gys1

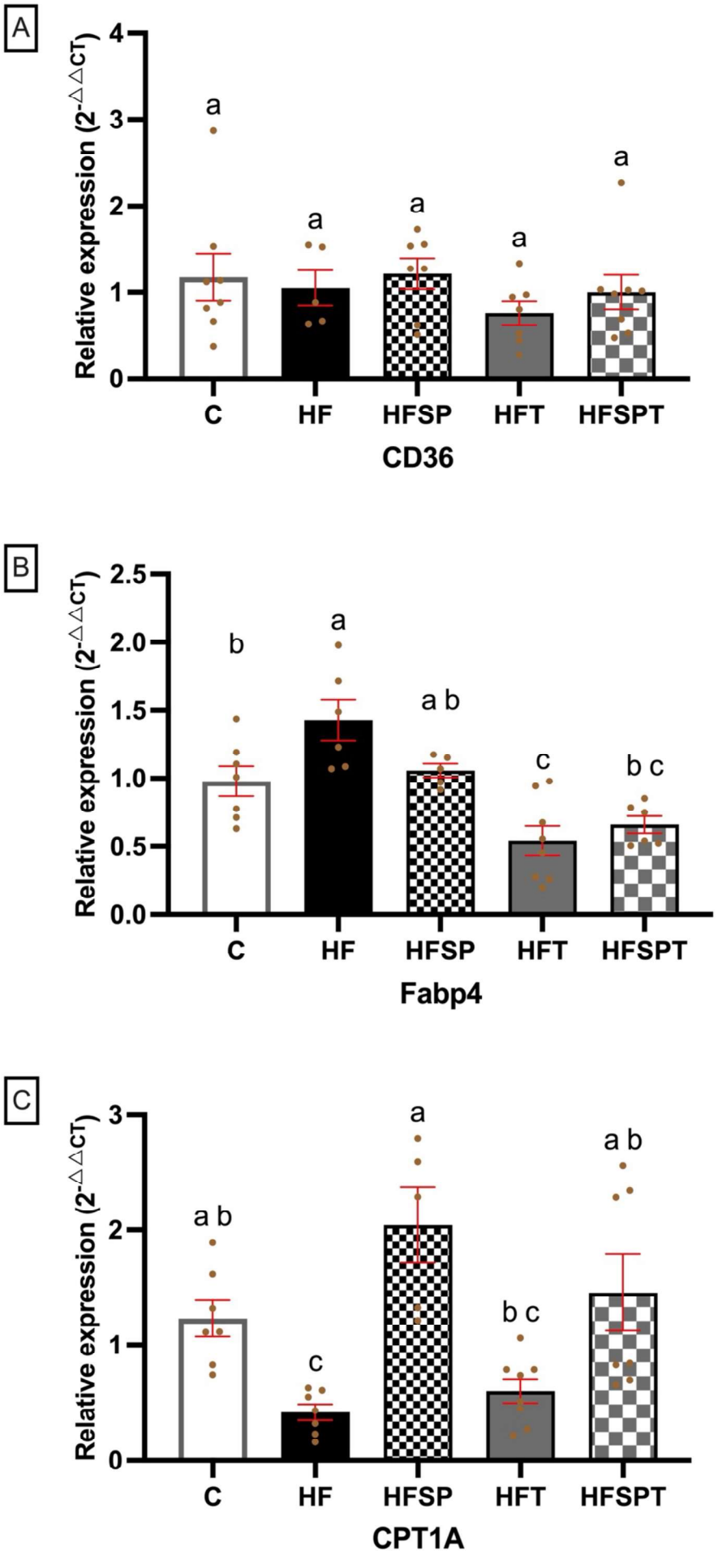

A
Relative expression (2^-ΔΔCT)
4
3
2
1
0
a
a
a
a
a
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
CD36
B
Relative expression (2^-ΔΔCT)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
b
a
a b
c
b c
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
Fabp4
C
Relative expression (2^-ΔΔCT)
3
2
1
0
a b
c
a
b c
a b
C
HF
HFSP
HFT
HFSPT
CPT1A

Figure 5

3. **Publication 3 :** Combined effects of spirulina liquid extract and endurance training on hepatic triglycerides, SCD1, PPARα, and desaturase regulation in rats with high fat diet induced NAFLD (en préparation)

L'obésité concerne aujourd'hui plus d'un milliard de personnes dans le monde, avec une progression particulièrement marquée chez les jeunes. Elle est principalement liée à une alimentation riche en graisses saturées et sucres raffinés, ainsi qu'à un mode de vie sédentaire. Parmi ses complications, la NAFLD est une pathologie métabolique en forte augmentation, caractérisée par une accumulation excessive de TG dans le foie. Ce phénomène résulte de la surexpression d'enzymes lipogéniques telles que SCD1, et d'un déséquilibre entre la synthèse et l'oxydation des acides gras. La régulation des désaturases et des élongases (FADS1, FADS2, Elovl2, Elovl5) est également altérée. L'exercice physique améliore le métabolisme hépatique des lipides, notamment via l'activation de PPARα. En parallèle, des compléments alimentaires tels que la spiruline (riche en PC) ont démontré des propriétés antioxydantes intéressantes. Des études récentes suggèrent que le SLE réduit la lipogenèse hépatique, l'inflammation et l'accumulation de lipides. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets combinés du SLE et d'un entraînement d'endurance sur des rats jeunes nourris avec un régime HFHS, en se concentrant sur la régulation des gènes du métabolisme lipidique hépatique.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une accumulation de TG hépatique, en accord avec les données précédemment rapportées dans la littérature. L'entraînement en endurance a permis de réduire cette accumulation, mais la supplémentation en SLE seule s'est révélée encore plus efficace que l'entraînement, indiquant un effet hépatoprotecteur notable du SLE contre la stéatose. En revanche, les concentrations de cholestérol total hépatique restent inchangées, probablement en raison de l'absence de cholestérol exogène dans le régime HFHS utilisé, contrairement à d'autres modèles enrichis (ex. : Coué et al., 2019). Concernant le stress oxydatif lipidique, les niveaux de MDA sont paradoxalement réduits sous régime HFHS, probablement en raison de la faible teneur en AGPI dans ce régime comparativement au régime standard. La supplémentation en SLE ne modifie pas ces niveaux dans ce contexte, contrairement à d'autres études où le SLE réduisait les TBARS au cours d'un régime lipidique différent. La composition en acides gras hépatiques révèle une augmentation de l'acide stéarique (C18:0) avec le régime HFHS, sans effet du SLE. Néanmoins, la proportion totale d'acides gras saturés demeure stable entre les groupes. L'expression du gène SCD1, impliqué dans la désaturation des acides gras

saturés en AGMI, est augmentée avec le SLE et l'entraînement. Bien qu'une suractivation de SCD1 soit habituellement associée à une augmentation de la lipogenèse et de la stéatose hépatique, aucune accumulation supplémentaire de TG n'a été observée ici. Cela suggère un remodelage lipidique hépatique non pathologique et potentiellement adaptatif. Par ailleurs, la proportion totale d'AGMI restant inchangée, cette activation pourrait refléter une redistribution intracellulaire des lipides plutôt qu'une augmentation de leur synthèse. L'indice enzymatique de la Δ6 désaturase est augmenté avec le régime HFHS, bien que les proportions de C18:2n-6 (acide linoléique) et de C20:3n-6 (acide dihomo-γ-linolénique) restent stables. L'expression des gènes FADS2 (Δ6 désaturase) et Elovl5 (élongase) n'est pas modifiée avec le régime HFHS, sauf dans le groupe recevant le régime standard où la combinaison SLE et entraînement induit une surexpression de FADS2. De même, l'indice Δ5 désaturase et l'expression de FADS1 ne varient pas entre les groupes suggérant que le métabolisme des AGPI semble peu influencé par le SLE ou l'entraînement dans les conditions d'un régime HFHS, probablement en raison de l'absence d'AGPI alimentaires. Enfin, le gène PPARα a été surexprimé dans le foie des rats soumis au régime HFHS. Contrairement à d'autres modèles de NAFLD où PPARα est généralement sous-exprimé, cette augmentation pourrait refléter une réponse compensatoire à l'excès lipidique apporté par l'alimentation. L'administration du SLE dans ce contexte diminue l'expression de PPARα, ce qui pourrait indiquer une réduction du stress métabolique hépatique et une moindre nécessité de compensation transcriptionnelle. Cet effet est également observé avec l'entraînement seul, PPARα retrouve une expression à hauteur du contrôle avec un régime standard. De manière intéressante, une surexpression de PPARα est observée lorsque le SLE est administré en combinaison avec l'entraînement, aussi bien dans un contexte de régime standard que dans un régime HFHS. Cela suggère que le SLE pourrait potentialiser l'activation des voies d'oxydation lipidique induites par l'exercice. De manière générale, la supplémentation en SLE, seule ou combinée à l'entraînement en endurance, exerce des effets hépatoprotecteurs notables dans un contexte d'alimentation obésogène. Ces effets se traduisent par une diminution de l'accumulation hépatique de TG, un remodelage lipidique favorable et une régulation de l'expression des gènes impliqués dans la lipogenèse et l'oxydation des acides gras. Ces résultats suggèrent que le SLE apparaît comme un candidat prometteur pour la prévention ou l'atténuation de la NAFLD, en particulier lorsqu'il est associé à une activité physique.

Combined effects of spirulina liquid extract and endurance training on hepatic triglycerides, SCD1, PPARα, and desaturase regulation in rats with high fat diet induced NAFLD

Introduction

According to the World Health Organization (WHO), more than 1 billion individuals were living with obesity in 2022, including approximately 890 million adults. This represents a significant rise from previous years. Overall, about 2.5 billion adults (43%) were classified as overweight, with 16% categorized as obese. Since 1990, the global prevalence of obesity has more than doubled among adults and quadrupled among children and adolescents aged 5 to 19 (NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), 2024; World Health Organization, 2024). As a result, obesity has emerged as a major global health concern, not only impairing quality of life but also contributing significantly to the global burden of disease. It is now recognized as the second leading preventable cause of death, following smoking, and is responsible for approximately 3.4 million deaths annually (Chooi et al., 2019; World Health Organization, 2024). A key driver of this epidemic is the increasingly sedentary lifestyle, coupled with the overconsumption of energy-dense foods, particularly high saturated fat diet and refined sugars (Friedman, 2009; Hu et al., 2018). This energy imbalance is especially pronounced among adolescents, who are particularly vulnerable due to shifting lifestyle habits and inadequate physical activity (Sahoo et al., 2015). Among the various complications associated with obesity, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has gained increasing attention due to its rising prevalence and metabolic implications. Thus, in parallel with the obesity epidemic, the prevalence of NAFLD has also increased worldwide. NAFLD is a multifactorial liver disorder closely linked to obesity and metabolic dysfunction. Diets rich in fats and sugars are recognized as major contributors to the pathogenesis of NAFLD, notably through mechanisms such as de novo lipogenesis, insulin resistance, and inflammation (Yki-Järvinen et al., 2021).

The liver is composed of hepatocytic cells that are particularly sensitive to triglyceride (TG) accumulation, a marker of NAFLD (Tsukamoto, 2005). Excessive stimulation of hepatic fatty acid synthesis, often due to overnutrition and high fructose intake, significantly contributes to the development of NAFLD (Gaby, 2005). This state leads to compensatory hyperinsulinemia, which enhancing fatty acid synthesis, while inhibiting their breakdown in hepatocytes. Thus, when the supply of fatty acids surpasses the liver's β-oxidation capacity, the accumulation of

acyl-CoA promotes their conversion into TGs, exacerbating hepatic steatosis (Zámbó et al., 2013). However, it is important to note that the accumulation of FFAs or acyl-CoA can be more hepatotoxic than TG storage. Studies using human hepatic cell lines (HepG2 and Huh7) have shown that lipotoxicity induced by saturated stearic acid is triggered when TG synthesis is disrupted. In contrast, the cellular capacity to synthesize and store TGs in the presence of unsaturated oleic acid appears to serve as a protective mechanism against lipotoxicity (Mantzaris et al., 2011). Other has shown that acyl-CoA formation is a pivotal step in hepatic lipotoxicity induced by fatty acids (Neuschwander-Tetri, 2010). Among the metabolites derived from acyl-CoA, ceramides play a central role in hepatic cell damage and are particularly abundant in individuals with NAFLD (Neuschwander-Tetri, 2010).

It has been reported on obese patients with NAFLD that increased hepatic accumulation of diacylglycerols induced an high activity of stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1), which is suspected to play a crucial role in diet-induced hepatic insulin resistance (Gutiérrez-Juárez et al., 2006; Kotronen et al., 2009). SCD1 activity catalyzes the conversion of stearic acid (C18:0) into the monounsaturated fatty acid oleic acid (C18:1) (Extier et al., 2010). High intake of saturated fatty acids such as C16:0 and C18:0 is associated with altered activity of hepatic fatty acid-synthesizing enzymes. During obesity, these enzymes activity are increased due to circulating FFAs. Several factors influence the synthesis of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) by modulating the activity or expression of desaturases and elongases (Videla et al., 2022). Animal studies demonstrate that dietary intake impacts the enzymatic activity of fatty acid desaturation. For instance, Valenzuela et al. (2015) observed that a high-fat diet (60% of caloric intake from fats) reduces Δ5-desaturase (Δ5) and Δ6-desaturase (Δ6) activities in hepatic microsomal fractions. This enzymatic downregulation limits PUFA bioavailability both in the liver and peripheral tissues, as Δ5 is responsible for converting eicosatetraenoic acid (C20:4n-6) into eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3), and Δ6 catalyzes the conversion of linoleic acid (C18:2n-6) into gamma-linolenic acid (C18:3n-6) (Extier et al., 2010; Valenzuela et al., 2015). Moreover, in patients with NAFLD, a decrease in hepatic desaturation activity has been reported (ARAYA et al., 2004). Fatty acid product/precursor ratios suggested a inhibition of Δ5 and Δ6 enzymes (Athinarayanan et al., 2021). In obesity associated with NAFLD, reduced hepatic desaturase activity is paradoxically accompanied by increased mRNA expression of FADS1 (Δ5 gene) and FADS2 (Δ6 gene) (Delarue et al., 2004). Furthermore, dysregulation of SCD1 (Δ9 gene) plays a key role in the development of NAFLD, hyperlipidemia, and obesity. Studies in SCD1 deficient mice show reduced hepatic TG accumulation, increased fatty acid oxidation, and decreased de novo lipogenesis. SCD1 expression is upregulated by high insulin

levels and lipid rich diets (Tao et al., 2021). Elevated ELOVL5 activity supports TG catabolism, reducing NAFLD severity, while its downregulation enhances hepatic lipogenesis and hypercholesterolemia (Santamarina et al., 2025). ELOVL5 expression is reduced by 50% in livers of obese mice fed a high-fat diet (Tripathy et al., 2014). In the same study, ELOVL5 overexpression in obese mice reduced hepatic TG levels, increased their catabolism, and elevated PUFA levels, although no increase in β-oxidation activity was observed, and the resulting PUFAs did not activate PPARα (Tripathy et al., 2014). ELOVL2 is essential for the synthesis of very long-chain PUFAs (>C24). Its expression declines during obesity, associated with mitochondrial dysfunction in obese mice. This includes reduced oxidative phosphorylation efficiency and increased proton leakage. Interestingly, ELOVL2 knockout (KO) mice exhibit protection against hepatic steatosis and a higher basal metabolic rate, reducing hepatic fat accumulation. These findings suggest that ELOVL2 is a key regulator of lipid and energy metabolism, with potential implications for obesity management through its effects on mitochondria and PUFA homeostasis (Gómez Rodríguez et al., 2022). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARα) is highly responsive to dietary lipid intake, but its activity is diminished under obesogenic conditions. This downregulation reduces fatty acid oxidation and the expression of desaturases and elongases (Jump et al., 2005), contributing to the metabolic dysregulation seen in prolonged obesity, including NAFLD and insulin resistance. However, PPARα activation in obese mice confers protection against obesity and counterbalance metabolic disorders (Huang et al., 2012).

Physical exercise is well recognized as a therapeutic strategy to counteract obesity and related disorders such as NAFLD (Cigrovski Berkovic et al., 2021). Regular exercise has been shown to affect hepatic fatty acid synthesis gene expression. One study demonstrated that an eight-week training program reduced SCD1 mRNA and protein levels in rats on both standard and high fat diets. However, this reduction did not significantly lower hepatic TG levels, suggesting that exercise primarily regulates lipid metabolism via SCD1 at a molecular level before physiological changes. Notably, the SCD1 desaturation index remained unchanged regardless of diet, highlighting early signaling effects of exercise (Yasari et al., 2010). Another study has reported that swimming training in mice led to reduced expression of several lipogenic enzymes, including SCD1 suggesting that aerobic exercise suppresses hepatic fatty acid accumulation by reducing lipogenesis (Wu et al., 2015). Endurance training also significantly enhances PPARα expression. After eight weeks of training, its upregulation was associated with increased fatty acid oxidation and reduced hepatic lipid accumulation.

Food supplements are increasingly being recognized as potential strategies to address NAFLD and obesity, particularly in situations where physical exercise alone is insufficient or impractical. Among these nutritional interventions, microalgae have gained considerable attention due to their rich content of bioactive compounds, including proteins, carbohydrates, omega 3 PUFAs, minerals, vitamins and antioxidants (Vignaud et al., 2023). A notable example is the cyanobacterium Spirulina platensis, which is widely used for its potent antioxidant properties, primarily attributed to its high phycocyanin (PC) content. PC has been linked to various metabolic health benefits, such as anti-diabetic effects, improved insulin sensitivity, and regulation of both lipid metabolism and glycemia (Ou et al., 2013). Moreover, PC has been shown to prevent weight gain associated with high fat diet intake, modulate levels of adipokines such as leptin and attenuate pro-inflammatory responses (Silva-Neto et al., 2023). Recent studies have demonstrated that Spirulina liquid extract (SLE) with bioactive molecules like PC, offers protective effects against obesity, hepatic fibrosis, inflammation, oxidative stress and insulin resistance induced by a Western style diet. Additionally, these studies reported downregulation of SCD1 and PPARα mRNA expression in the liver, suggesting that these effects may confer protection against NAFLD (Coué et al., 2019). Furthermore, SLE has been shown to reduce hepatic cholesterol content in hamsters fed a high fat and cholesterol diet, suggesting its preventive role in the development of hepatic steatosis. SLE also reduces the accumulation of glucosylceramides in the liver of high fat diet fed animals. Additionally, SLE decreases the hepatic expression of TGF-β1 (Transforming Growth Factor Beta 1), a pro-inflammatory and pro-fibrotic factor involved in the progression of NAFLD (Kasbi-Chadli et al., 2021).

Based on the known benefits of physical activity and SLE, this study aimed to investigate the combined effects of endurance training and SLE in young rats subjected to a high fat diet. We hypothesized that this combination could reduce hepatic TG accumulation, potentially via activation of PPARα and improved lipid metabolism. Moreover, we anticipated that changes in hepatic fatty acid composition could contribute to these effects, possibly involving transcriptional modulation of desaturase and elongase enzymes.

Material and methods

Animals and diets

Sixty-four male Wistar rats, weighing 120 ± 10 g were obtained from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). They were housed four per cage under controlled conditions of temperature hygrometry and with a 12h light/dark cycle. All animals were fed ad libitum with the standard diet A04 (SAFE, Augy, France) and had access to tap water for one week of acclimatization. The experimental procedures, including the rationale for using the animal model and the specifics regarding the 3R rule (housing and husbandry, well-being, animal care and monitoring) have received approval from the Ethical Committee 006 Pays de la Loire and by the French Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (APAFIS #40394-202301111324826 v6, 23 February 2023).

After a one-week acclimatization period, all rats were randomly assigned to one of eight experimental groups (n = 8 per group) and received their respective diets ad libitum for a duration of eight weeks (**see Table A**): (1) Control (C): standard A04 diet without exercise training; (2) SP: standard diet supplemented with SLE (commercialized as Spirulysat®) was added to drinking water at a concentration of 1.1 mg/100 g of bodyweight (Kasbi-Chadli et al., 2021); (3) High Fat (HF): high-fat diet (HF260, Safe, Augy, France) supplemented with 10% fructose in the drinking water (Mayer et al., 2022), without exercise training; (4) HFSP: high fat diet supplemented with SLE; (5) Training (T): standard diet with aerobic exercise training; (6) SPT: standard diet with exercise training and SLE supplementation; (7) High-Fat Training (HFT): high-fat diet with exercise training; (8) HFSPT: high-fat diet with exercise training and SLE supplementation.

Table 1: Distribution of experimental groups according to physical activity, diet and supplementation

Group	Exercise training	Standard diet (A04)	High fat diet (HF260)	Supplementation (SLE)
C		X		
SP		X		X
HF			X	
HFSP			X	X
T	X	X		
SPT	X	X		X
HFT	X		X	
HFSPT	X		X	X

Moreover, the composition of A04 diet and HF260 are described in **table 2**. the SLE was kindly supplied by AlgoSource (Guérande, France). Its composition is as follows (Kasbi-Chadli et al., 2021): phycocyanin (mg/L) 883; carbohydrates (g/100g) 0.4; amino acids (g/100g): threonine 0.009, aspartate 0.0187, alanine 0.0168, arginine 0.0138, leucine 0.0164, glutamate 0.022; ions (mg/kg): Fe^{2+}, 1.05; Mg^{2+}, 18; Ca^{2+}, 330; K^{+},55; Cu^{2+}, 0.2.

Table 2: Nutritional composition and detailed mole percentages of standard (A04) and high-fat (HF260) diets in rats

Nutritional composition	**Standard (A04)**	**High fat diet (HF260)**
	g/kg	**g/kg**
Proteins	161	198
Carbohydrates	604	372
Lipides	31	359
ashes	46	42
Fibers	39	1
Humidity	119	28
Total	1000	1000
Fatty acids	**g/kg**	**g/kg**
Palmitic acid	5,9	110,5
Stearic acid	0,6	37,1
Palmitoleic acid	0,2	4,1
Oleic acid	4,8	63,9
Linoleic acid	15	16,9
Alpha-linolenic acid	1,2	3,0
Eicosapentaenoic acid	-	0,1
Docosapentaenoic acid	-	1,5
Fatty acids	**Mole %**	**Mole %**
4:0	-	1,49
8:0	-	1,20
10:0	-	3,07
12:0	-	3,95
14:0	0,63	13,16
16:0	15,91	32,87
16:1n-7	0,73	-
18:0	2,00	13,32
18:1n-9	21,44	16,92
18:2n-6	49,94	5,44
18:3n-3	4,23	-

Nutritional composition	Standard (A04)	High fat diet (HF260)
18:4n-3	1,28	-
20:5n-3	0,66	-
22:5n-3	0,91	-
22:6n-3	1,03	-
Others	1,24	8,58
Total saturated fatty acids	18,54	69,06
Total monounsaturated fatty acids	22,17	16,92
Total polyunsaturated fatty acids	58,05	5,44
Total n-3 polyunsaturated fatty acids	8,11	-
Total n-6 polyunsaturated fatty acids	49,94	5,46
n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids ratio	0,16	-
Total fatty acids	98,76	91,42

Training protocols

The endurance training protocol was previously described in another study and is summarized in **Figure 1** (Vignaud et al., 2025). During the acclimatization week, all animals were familiarized with a treadmill (BIOSEB, Vitrolles, France) by progressively increasing the running speed from 11 to 21 cm/sec. Subsequently, the training groups (T, SPT, HFT, and HFSPT) have realized a maximal aerobic speed (MAS) test to determine individualized training intensities. The MAS protocol began at a speed of 15 cm/sec, increasing by 3 cm/sec every minute during the initial phase, followed by increments of 2 cm/sec per minute, then continuing until exhaustion (adapted from (Cardenia et al., 2017; Fadaei Chafy et al., 2022)). The eight-week training program consisted of three blocks. The first two blocks lasted three weeks each, with treadmill speeds set at 60 % of MAS during the first week, 70 % during the second, and 80 % during the third week. The final block lasted two weeks, with intensities of 60 % and 70 % MAS for the first and second week, respectively. Moreover, from block 2, sprints were incorporated in addition to the training speed to improve MAS and further stress the mitochondrial tissue (Kryściak et al., 2018). Additionally, each MAS test or daily training session began with a 6 minute warm-up, gradually increasing speed from 15 cm/sec to 30 cm/sec (Ferreira et al., 2007).

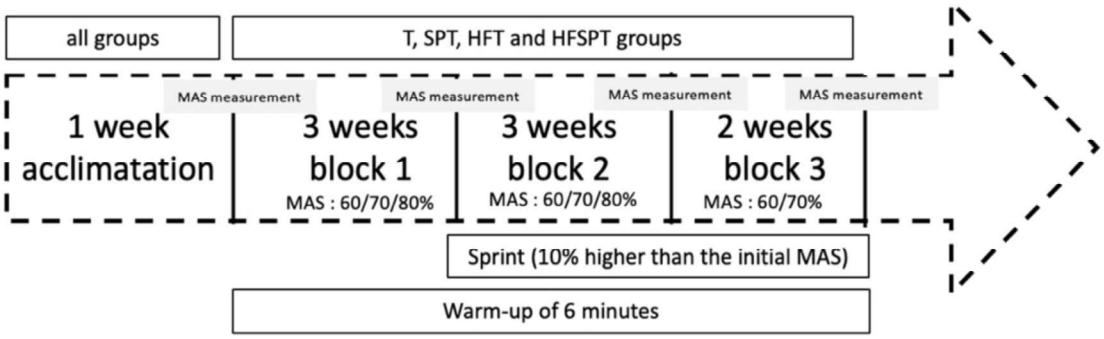


Figure 1 : experimental design of the endurance training protocol performed in rats

Anesthesia and liver sampling

After the final training session, animals underwent a 3 day rest period to eliminate potential acute exercise effects (Carvalho et al., 2022; Dong et al., 2014; Silva et al., 2011). Following this period, they were anesthetized via intraperitoneal injection (0.1 mL/100 g body weight) with a diazepam (5 mg/mL) and ketamine (100 mg/mL) mixture in a 4:3 volume ratio. Liver tissues were then weighted and collected for lipid profiling and molecular analyses, and immediately stored at −80 °C.

Fatty acid composition analyses

Fatty acid profiles in rat liver were analyzed using gas chromatography with flame ionization detection. Total lipids were extracted from liver tissue using a chloroform/methanol mixture (2:1, v/v), following the method described by Folch et al. (Eggers and Schwudke, 2016). Phospholipids were then separated from total lipids based on polarity using silica Sep-Pak Plus cartridges (Waters, Guyancourt, France). Neutral lipids were eluted with chloroform, while phospholipids were subsequently eluted with methanol and used for analysis. Fatty acid methyl esters (FAMEs) were prepared according to the method of Slover and Lanza (Slover and Lanza, 1979), and analyzed by gas chromatography. FAMEs were detected using a flame ionization detector, and individual fatty acids were identified by comparing retention times with known standards. Results were expressed as the relative percentage of each fatty acid (% of total fatty acids).

Hepatic Lipid Measurements

TG and total cholesterol levels were quantified from total liver lipid extracts using enzymatic colorimetric assays with commercial kits (Triglycerides: CAK-1086, Clinisciences; Total Cholesterol: KA3709, Clinisciences).

Liver RNA extraction and gene expression

Thirty milligrams of liver were used for total RNA extraction, utilizing the RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Abcam, Cambridge, UK). RNA concentration was quantified by measuring absorbance at 260 nm using a Nanodrop OneC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Reverse transcription of RNA samples was performed using M-MLV Reverse Transcriptase (Promega, Madison, WI, USA) in a GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). In the first step, 1 µg of RNA from each sample, 500 ng of oligo (dT)15 primers and 500 ng of random hexamer primers were incubated in 15 µL at 70°C for 5 minutes to allow annealing. In the second step, 10 µL of a mix containing dNTPs (0.5 mM), M-MLV RT (200 U), RNase inhibitor (25 U) and M-MLV 1X buffer was added. The tubes were then incubated at 42°C for 1 hour, followed by incubation at 70°C for 5 minutes to inactivate the enzyme.

The resulting cDNA was diluted 4 times prior to use. Quantitative Polymerase Chain Reactive (PCR) was conducted using a QuantStudio 3 qPCR system (Applied Biosystems) with a standard program: an initial denaturation step at 95°C for 2 minutes, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 seconds and annealing/elongation at 60°C for 1 minute. A total of 5 µL of cDNA was added to a 15 µL reaction mix containing 10 µL of GoTaq qPCR Master Mix 2X (Promega), 1 µL of each forward and reverse primer (10 µM) and 3 µL of nuclease-free water.

Primers were designed using Primer3 software. In a view to investigate the expression of genes associated with glucose, lipid and mitochondrial metabolism, a list of primers has been designed (**Table 3**). Expression levels were calculated using the $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ method and normalized to tubulin α as the housekeeping gene (Livak and Schmittgen, 2001).

Table 3: primer sequences used for qPCR analysis of genes involved in hepatic lipid metabolism

Genes	Abbreviations	Forward primers	Reverse primers
Stearoyl-CoA desaturase 1	SCD1	GGCTGAGGTCCTGGTGTCTT	GCCTCTTGTCTACACCCGCT
Fatty Acid Desaturase 1	FADS1	GGGTGGGTGGTGGACAGAAA	GGCTGACTGGTGAACGTTGC
Fatty Acid Desaturase 2	FADS2	GTCCAGCCAACACACACAGC	TGTCTGCCCCTCTTTGGTGG
Elongation of Very Long Chain Fatty Acids Protein 5	ELOVL5	ACAAGAAAGGGGCCTCTCGG	TCACACGCCTTGGTCTGGAG
Elongation of Very Long Chain Fatty Acids Protein 2	ELOVL2	ACTGTGAACTGACGGCACCA	CCGTTGACCCGCATGTTAGC
Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha	PPARα	GTGCATGGCTGAGAAGACGC	TGCAAAGCCTGGGATAGCCT
Tubulin alpha 1	Tubα	CCACTTCCCTCTGGCCACTT	GGGACCACATCACCACGGTA

Statistical analysis

All data are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). Normality of data distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test. When normality was confirmed, group differences were analyzed using one-way ANOVA, and homogeneity of variances was evaluated using both the Brown–Forsythe and Bartlett's tests. In cases where assumptions of normality or homogeneity were not respected, the non-parametric Kruskal–Wallis test was applied. Post hoc analyses were performed using Tukey's test (following ANOVA) or Dunn's test (following Kruskal–Wallis). A p-value < 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using Prism software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Results

Liver lipids profile parameters

At the end of the experimental protocol, total liver weight was measured and showed no significant differences between the experimental groups. However, hepatic TG concentration (**Figure 2A**) was significantly increased in the HF group compared to the C group. Endurance training (T group) led to a reduction in hepatic TG levels relative to the HF group. Notably, SLE supplementation, regardless of the experimental condition, significantly reduced hepatic TG concentration compared to the HF group, restoring it to levels comparable to the control group. These results highlight a protective effect of SLE against hepatic TG accumulation

induced by a high-fat diet. Conversely, hepatic cholesterol levels did not differ significantly between groups (**Figure 2B**).

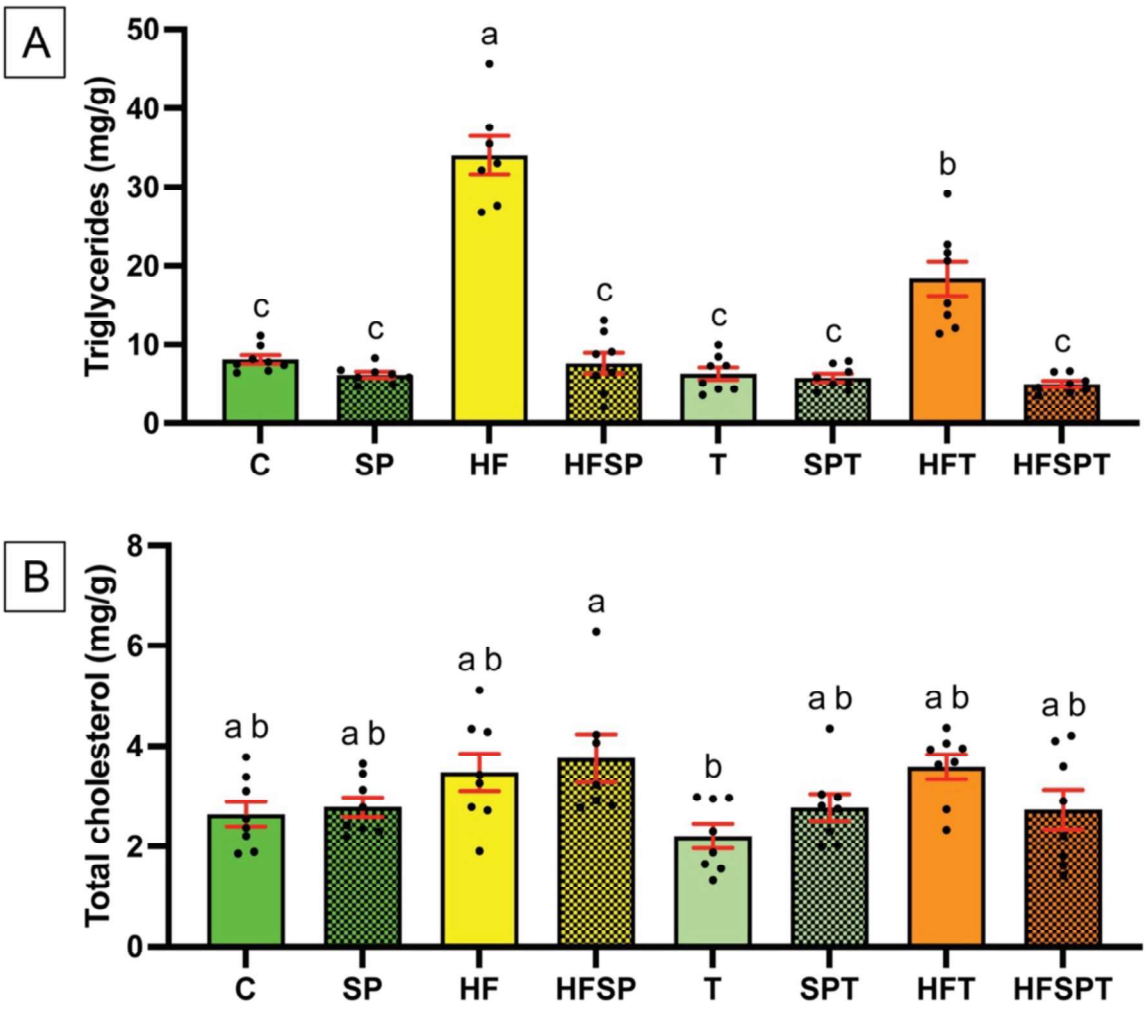


Figure 2: Triglycerides (A) and total cholesterol (B). Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Data are presented as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Assessment of lipid peroxidation in liver

Hepatic MDA concentration (**Figure 3**) was significantly reduced in the HF group compared to the C group. Endurance training, regardless of dietary condition (standard or high fat diet), also led to a reduction in MDA levels. No significant effect of SLE supplementation was observed under any experimental condition.

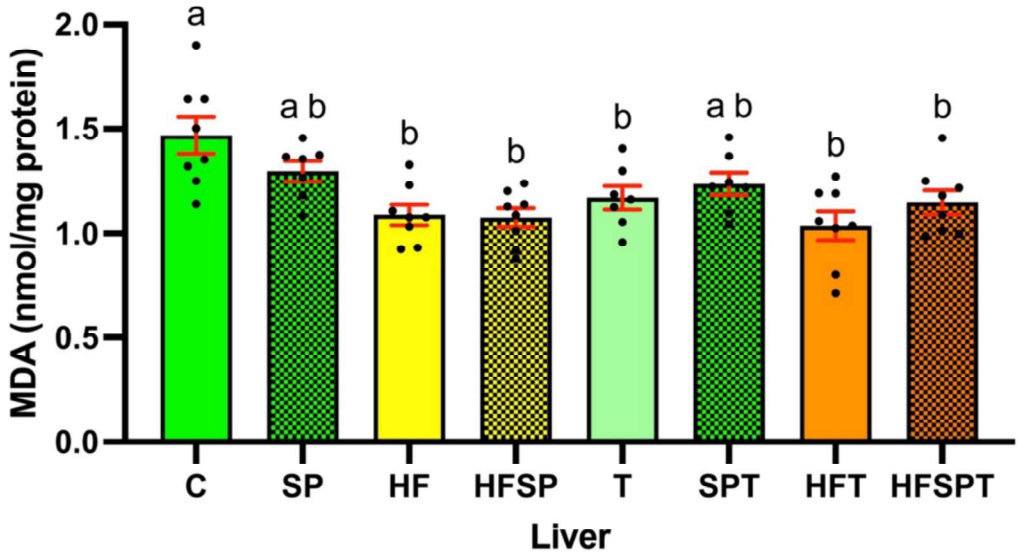


Figure 3: Malondialdehyde concentration in liver. Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Data are presented as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Liver phospholipids compositions

The analysis of liver lipid composition (**Table 4**) revealed that the proportion of stearic acid (C18:0) increased in the high fat diet (HF group) compared to the C group. Supplementation with SLE under standard diet conditions led to a reduction in the C18:0 proportion. However, in the SP group, where SLE was administered with a high-fat diet, SLE supplementation did not prevent the increase in hepatic C18:0 levels. The endurance training protocol did not affect hepatic fatty acid composition. Although dietary interventions led to some differences, total saturated fatty acid levels remained unchanged across conditions.

Similarly, the proportion of C16:1n-7 (palmitoleic acid) decreased with SLE supplementation under standard diet conditions in trained animals (T vs. SPT groups). However, the total monounsaturated fatty acid content remained unchanged between groups.

Under a standard diet, endurance training combined with SLE supplementation led to an increased hepatic proportion of linoleic acid (C18:2n-6) compared to training alone (SP vs. SPT groups). In contrast, under a high fat diet, SLE supplementation in trained animals resulted in a decreased hepatic proportion of C18:2n-6 compared to the non-supplemented trained group (HFT vs. HFSPT groups). The total proportion of n-6 fatty acids revealed a combined effect of SLE supplementation and endurance training under standard diet conditions (C vs. SPT groups). This effect appears to be specific to the combination of both interventions, as neither SLE supplementation alone (SP group) or endurance training alone (T group) induced significant

changes. Among individual n-6 fatty acids, only dihomo-γ-linolenic acid (C20:3n-6) measured significant variations. Specifically, SLE supplementation during endurance training under a standard diet resulted in a significant decrease in hepatic C20:3n-6 levels compared to the non-supplemented trained group (T vs. SPT). In contrast, under a high-fat diet, C20:3n-6 levels were increased in SLE-supplemented trained animals relative to those under the standard diet with the same intervention (SPT vs. HFSPT).

Regarding the total hepatic n-3 fatty acid proportion, a combined effect of SLE supplementation and endurance training under standard diet conditions was observed, resulting in a decrease in the n-3 fatty acid levels in the SPT group compared to the C group. Consequently, based on the total proportions of n-6 and n-3 fatty acids, the n-6/n-3 ratio was significantly reduced in the SPT group relative to the control.

Table 4 : relative fatty acid composition (%) in liver lipids

	C	SP	HF	HFsp	T	SPT	HFT	HFSPT
Fatty acid (relative %)	**Mean±SEM**							
SFA								
C16:0	18,74±0,29^{ab}	19,43±0,39^{a}	17,32±0,49^{ab}	17,63±0,36^{ab}	18,88±0,30^{ab}	17,31±0,43^{ab}	17,06±0,21^{b}	17,81±0,61^{ab}
C18:0	20,55±0,34^{bd}	19,99±0,37^{c}	23,24±0,58^{a}	22,80±0,56^{ab}	20,25±0,49^{cd}	22,56±0,81^{abc}	22,39±0,41^{ad}	22,95±0,78^{ab}
Total SFA	39,29±0,27^{b}	39,42±0,32^{ab}	40,23±0,20^{ab}	40,43±0,30^{ab}	39,13±0,34^{b}	39,86±0,49^{ab}	39,45±0,23^{ab}	40,77±0,26^{a}
MUFA								
C16:1n-7	1,43±0,13^{ab}	1,27±0,12^{ab}	0,95±0,09^{b}	0,91±0,15^{b}	1,66±0,15^{a}	0,87±0,08^{b}	1,10±0,12^{ab}	1,14±0,23^{ab}
C18:1n-9 + 7	7,60±0,26^{ab}	7,76±0,60^{ab}	9,02±0,71^{ab}	9,38±0,68^{ab}	7,62±0,40^{ab}	7,13±0,48^{a}	9,81±0,25^{a}	9,94±1,01^{ab}
Total MUFA	9,03±0,29^{ab}	9,04±0,70^{ab}	9,98±0,76^{ab}	10,29±0,79^{ab}	9,28±0,51^{ab}	8,00±0,53^{b}	10,92±0,35^{a}	11,08±1,24^{ab}
PUFA								
C18:2n-6	13,22±0,38^{ab}	11,76±0,58^{bc}	10,94±0,22^{cd}	9,49±0,57^{d}	14,87±0,41^{a}	14,27±0,37^{a}	13,18±0,37^{ab}	10,87±0,42^{cd}
C20:3n-6	1,34±0,12^{ab}	1,29±0,11^{bc}	2,05±0,19^{ab}	1,84±0,18^{ab}	1,45±0,21^{ab}	0,86±0,08^{c}	2,45±0,14^{b}	1,65±0,06^{ab}
C20:4n-6	26,67±0,68^{ac}	28,88±0,66^{a}	26,72±0,78^{ac}	27,03±0,85^{ac}	25,78±0,66^{c}	29,30±0,64^{a}	25,09±0,70^{c}	26,35±0,77^{bc}
C22:5n-6	1,01±0,06^{ac}	0,83±0,04^{bc}	1,30±0,10^{a}	0,97±0,04^{ac}	0,98±0,07^{ac}	0,70±0,04^{c}	1,1±0,11^{ab}	0,83±0,08^{bc}
C22:6n-3	9,44±0,43^{a}	8,78±0,38^{ab}	8,78±0,35^{ab}	9,74±0,49^{a}	8,5±0,17^{ab}	7,01±0,16^{c}	7,81±0,28^{ab}	8,23±0,52^{ab}
Total PUFA n-6	41,23±0,51^{bd}	41,93±0,97^{bd}	39,71±0,92^{bd}	38,36±0,63^{d}	42,10±0,64^{ab}	44,43±0,49^{a}	40,72±0,36^{bd}	38,87±0,99^{cd}
Total PUFA n-3	10,45±0,48^{a}	9,62±0,39^{ab}	10,08±0,42^{a}	10,72±0,48^{a}	9,49±0,19^{ab}	7,71±0,19^{b}	8,92±0,38^{ab}	9,06±0,57^{ab}
n-6PUFA/n-3PUFA	3,89±0,23^{b}	4,30±0,25^{ab}	3,79±0,22^{b}	3,46±0,18^{b}	4,31±0,16^{ab}	5,69±0,21^{a}	4,36±0,24^{ab}	4,16±0,29^{ab}
Total PUFA	51,68±0,27^{ab}	51,55±0,67^{ab}	49,79±0,75^{ab}	49,07±0,68^{b}	51,59±0,48^{ab}	52,14±0,31^{a}	49,63±0,27^{b}	47,93±1,29^{b}
MUFA/SFA	0,23±0,01^{a}	0,23±0,02^{a}	0,25±0,02^{a}	0,26±0,02^{a}	0,24±0,01^{a}	0,20±0,02^{a}	0,28±0,01^{a}	0,27±0,03^{a}

The table represented means ± SEM of hepatic phospholipids proportion (%) of eight groups: Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). SFA: Saturated Fatty Acids, MUFA: Monounsaturated Fatty Acid, PUFA: Polyunsaturated Fatty Acid.

Liver desaturation indexes

The Δ5 desaturation index did not differ significantly between groups (**Table 5**). In contrast, the Δ6 desaturation + Elovl5 index was significantly increased in animals fed a high fat diet compared to those on a standard diet (C vs. HF), and this increase was not affected by SLE supplementation. However, under standard diet conditions, a significant decrease in the Δ6 +

Elovl5 index was observed when SLE supplementation was combined with endurance training (SP vs. SPT). No notable effects were detected under high fat diet conditions. Regarding the Δ9 desaturation index for C16, a decrease was observed exclusively in the SLE-supplemented endurance training group under standard diet (T vs. SPT). Conversely, the Δ9 desaturation index for C18 was increased in response to a high fat diet combined with SLE supplementation (SP vs. HFSP). A similar increase was found under endurance training conditions (T vs. HFT) and was maintained with the addition of SLE (HFT vs. HFSPT).

Table 5: Effect of Diet, Endurance Training, and SLE Supplementation on Hepatic Desaturase

	C	SP	HF	HFsp	T	SPT	HFT	HFSPT
Δ5 desaturation index	**21,15±1,97^{ab}**	**23,62±2,25^{ab}**	**13,75±1,27^{bc}**	**16,02±2,12^{bc}**	**21,35±4,00^{ac}**	**36,73±3,84^{a}**	**10,55±0,85^{c}**	**16,14±0,75^{ac}**
Δ6 desaturation + Elovl5 index	**0,10±0,01^{bd}**	**0,11±0,01^{bc}**	**0,19±0,02^{a}**	**0,19±0,01^{a}**	**0,10±0,01^{cd}**	**0,06±0,01^{d}**	**0,19±0,01^{a}**	**0,15±0,01^{ab}**
Δ9 desaturation index for C:16	**0,07±0,01^{ab}**	**0,06±0,01^{ab}**	**0,05±0,01^{ab}**	**0,05±0,01^{b}**	**0,09±0,01^{a}**	**0,05±0,01^{b}**	**0,06±0,01^{ab}**	**0,06±0,01^{ab}**
Δ9 desaturation index for C:18	**0,19±0,01^{ac}**	**0,18±0,03^{bc}**	**0,33±0,04^{ac}**	**0,38±0,04^{a}**	**0,17±0,01^{c}**	**0,16±0,02^{c}**	**0,35±0,01^{a}**	**0,41±0,06^{ab}**

Desaturase indices (means ± SEM) calculated in liver across eight experimental groups: Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). The Δ5 desaturation index is calculated as the 20:4n-6 / 20:3n−6 ratio; the Δ6 desaturation + Elovl5 index as the 20:3n-6 / 18:2n-6 ratio; the Δ9 desaturation index for C16 as the 16:1n−7 / 16:0 ratio; and for C18 as the 18:1n−9 / 18:0 ratio. All indices were calculated according to (Extier et al., 2010).

Liver desaturase genes

The Δ9-desaturase, encoded by the SCD1 gene (**Figure 4A**), showed no significant difference in expression between the C and HF groups. However, SLE supplementation led to a significant upregulation of SCD1 expression in both the CSP and HFSP groups. Similarly, T group induced an increase in SCD1 expression comparable to that observed with SLE supplementation. Notably, the combination of SLE supplementation and endurance training, regardless of dietary condition, did not result in additional changes in SCD1 expression, as no differences were observed between T and SPT or HFT and HFSPT groups.

Regarding the Δ5-desaturase, encoded by the FADS1 gene (**Figure 4B**), no significant changes in expression were observed across the different experimental conditions. In contrast, the Δ6-desaturase, encoded by the FADS2 gene (**Figure 4C**), was significantly upregulated only in

response to endurance training (C vs. T). Neither the high fat diet or SLE supplementation had a significant effect on FADS2 expression.

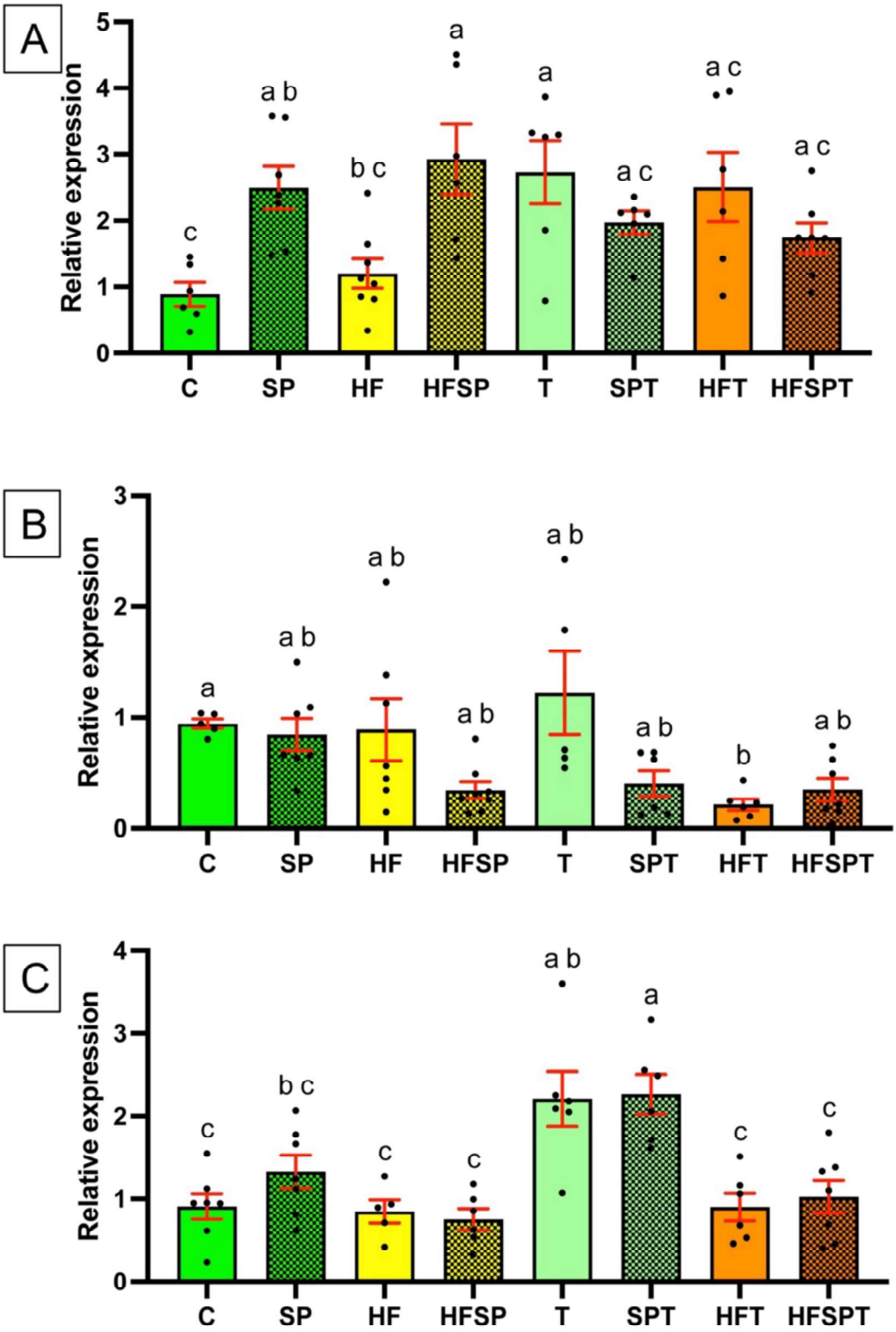


Figure 4: SCD1 (A), FADS1 (B) and FADS2 (C) genes expression in liver. Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Data are presented as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Liver elongase genes

Elovl5 gene expression (**Figure 5A**) was significantly upregulated in the HFSP group compared to the HF, C, and CSP groups. However, no significant changes in Elovl5 expression were observed in any of the four endurance training conditions. Similarly, Elovl2 gene expression (**Figure 5B**) remained unchanged across all experimental groups.

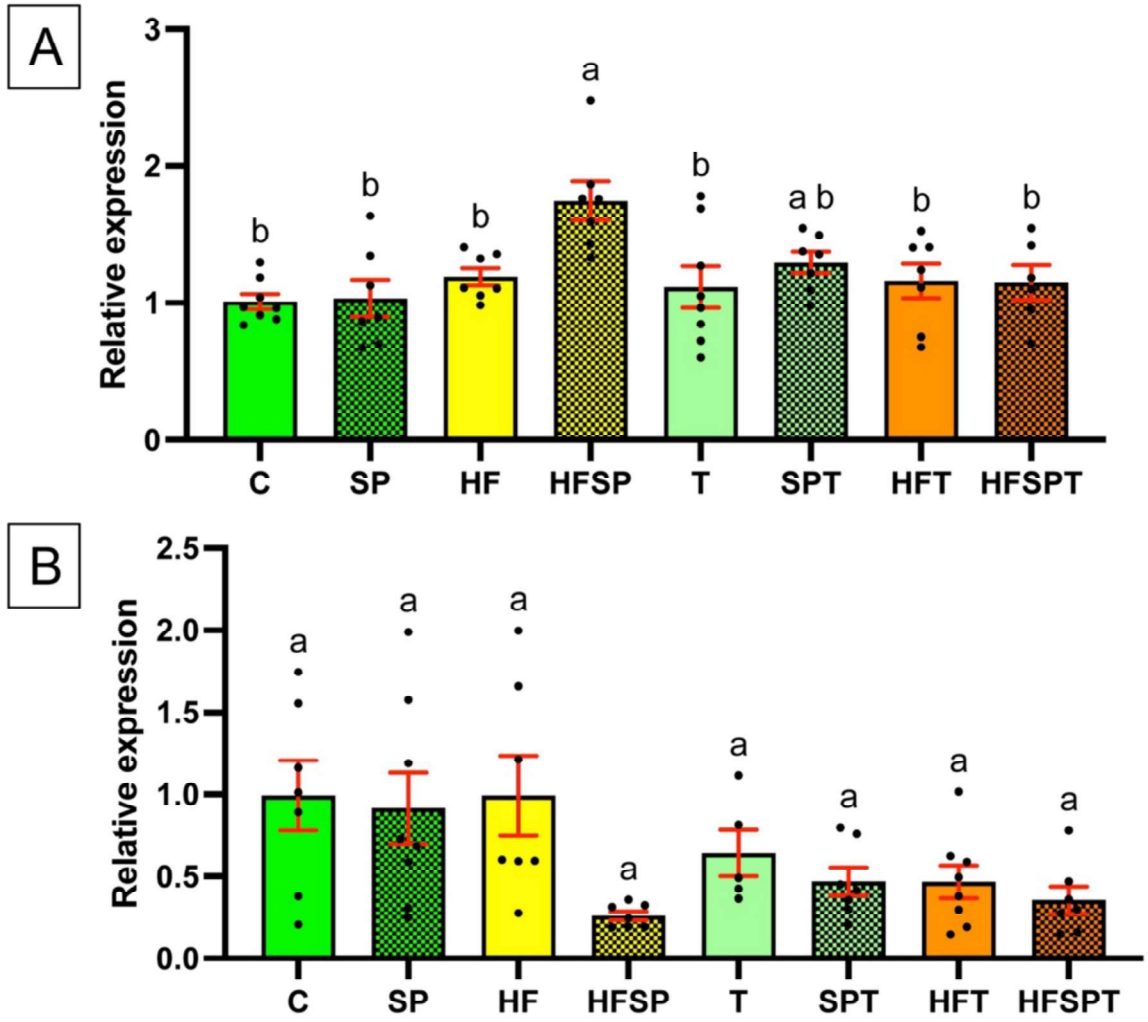


Figure 5: Elovl5 (A) and Elovl2 (B) genes expression in liver. Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Data are presented as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha gene in liver

PPARα gene expression (**Figure 6**) was significantly upregulated in the HF group compared to the C group. SLE supplementation resulted in a downregulation of PPARα expression in the HFSP group compared to HF. Interestingly, under endurance training conditions, SLE supplementation led to an upregulation of PPARα expression in both SPT and HFSPT groups.

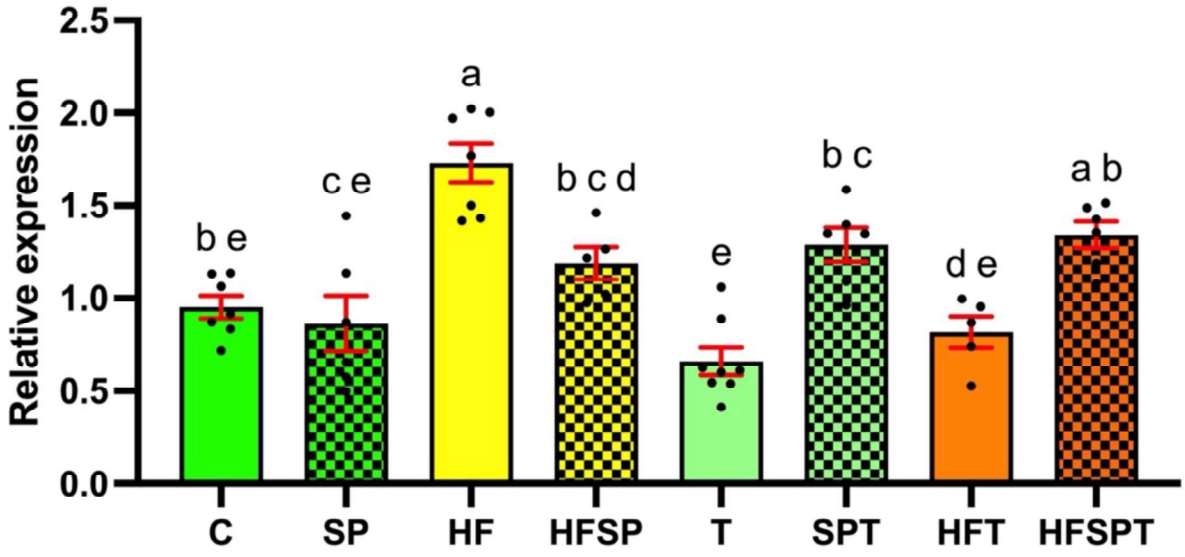


Figure 6: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha gene expression in liver. Control group fed a standard diet (C), C supplemented with SLE (SP), high-fat diet group (HF), HF supplemented with SLE (HFSP), C with endurance training (T), T supplemented with SLE (SPT), HF with endurance training (HFT), and HFT supplemented with SLE (HFSPT). Data are presented as mean ± SEM. Different letters (a > b > c) indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

Discussion

From the initial hypothesis, the SLE combinate with endurance training could have potential interesting effect against liver lipid disease as NAFLD induced by high fat diet.

In the present study, hepatic TG content was significantly increased in the HF group, consistent with previous findings using similar dietary models (Mayer et al., 2019). Endurance training is well documented for its ability to reduce hepatic TG levels (Alex et al., 2015; Suk and Shin, 2015), and in our study, the exercise protocol attenuated TG accumulation. However, SLE supplementation demonstrated a more pronounced effect, significantly reducing hepatic TG content both in the presence and absence of endurance training. These results suggest that SLE exerts a protective effect against hepatic lipid accumulation and may help prevent the development of NAFLD induced by a high fat diet.

Interestingly, total hepatic cholesterol levels remained unchanged across all experimental conditions. A previous study using a high fat, cholesterol enriched diet demonstrated that SLE supplementation could reduce diet-induced hypercholesterolemia (Coué et al., 2019). In the present study, the absence of such an effect is likely due to the fact that the high-fat diet used did not significantly alter cholesterol levels, thereby limiting the potential impact of SLE on this parameter.

MDA is a marker of PUFA peroxidation and is commonly used to predict oxidative stress levels (Singh et al., 2014). In the context of NAFLD, it is well documented that lipid accumulation leads to metabolic disturbances, resulting in the overproduction of reactive oxygen species and the development of oxidative stress, which in turn can cause damage to hepatocyte cells. (Ferro et al., 2020). The high fat diet used in this study is low in PUFA precursors, such as linoleic acid (C18:2n-6), with approximately 4.44 % in the high-fat diet compared to 49.94 % in the standard diet. This could explain the decrease in MDA levels observed in the HF group compared to the C group. SLE supplementation, with or without endurance training, showed no effect on this parameter. A study by Coué et al. demonstrated that SLE supplementation on mice reduced thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in response to a Western diet enriched with 2% cholesterol (Coué et al., 2019). It was expected that SLE would decrease MDA content, but in the absence of an increase induced by the high fat diet, it is difficult to assess the efficacy of SLE in this context.

It has been observed that hepatic levels of C18:0 (stearic acid) increase in response to a high fat diet (HF group) compared to the C group, without a concomitant rise in total saturated fatty acids, despite the high saturated fat content of the diet. This could be partially explained by the elevated hepatic TG content, reflecting substantial storage of fatty acids as TG. Previous studies have proposed that TG synthesis serves as a protective mechanism against lipotoxicity in the context of NAFLD (Choi and Diehl, 2008). Interestingly, in animals supplemented with SLE (SP and HFSP groups), a similar increase in hepatic C18:0 was observed, along with a notable elevation in the Δ9-desaturase index. This index act as a marker of SCD1 activity, is well recognized for its role in hepatic lipogenesis and TG synthesis, with increased activity being associated with TG accumulation and the development of NAFLD (Flowers, 2009). However, in this study, an increase in the Δ9-desaturase index was observed following SLE supplementation during high fat feeding, without any associated hepatic TG accumulation. Additionally, SCD1 gene expression was upregulated in the HFSP group. These findings suggest that SLE may have a beneficial effect on hepatic fatty acid metabolism by modulating lipid handling and preventing TG accumulation, while maintaining normal SCD1 activity under high fat dietary conditions. This hypothesis is supported by Coué et al. (2019), who reported that a Western diet induces upregulation of SCD1 expression, whereas SLE supplementation attenuates this effect, likely through improved hepatic lipid metabolism (Coué et al., 2019). Furthermore, the increase in both Δ9-desaturase index and SCD1 expression was also observed in animals subjected to endurance training, with or without SLE, under high fat diet conditions. Interestingly, Yasari et al. (2010) reported a downregulation of hepatic SCD1 expression

following endurance training, although without a reduction in hepatic TG content. This discrepancy may be explained by the composition of the high fat diet used in that study, which was rich in monounsaturated fatty acids (Yasari et al., 2010). In contrast, the high fat diet used in our study was predominantly composed of saturated fats, potentially accounting for the opposite effect on SCD1 activity. These findings suggest that the impact of diet on SCD1 expression and activity may depend on the specific fatty acid composition of the dietary fat. Independently of the SCD1 activity, hepatic total monounsaturated fatty acids stay unchanged whatever the conditions.

Regarding the PUFA Δ6-desaturase index, an increase was observed in the HF group compared to the C group, without any significant change in the hepatic proportions of C18:2n-6 and C20:3n-6. Additionally, the expression levels of FADS2 and Elovl5, two key genes involved in PUFA metabolism, remained unchanged between these groups. Similarly, Δ5-desaturase activity and FADS1 expression did not differ significantly across groups. It is well established that Δ5- and Δ6-desaturases are essential enzymes in the biosynthesis of PUFAs, including eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), and arachidonic acid (AA) (Matsuzaka et al., 2002). Moreover, it has been proposed that high PUFA intake can induce an autoregulatory feedback mechanism that modulates desaturase activity and PUFA levels, in which PPARα plays a regulatory role, particularly during fasting (Matsuzaka et al., 2002; Wang et al., 2006). In the present study, under a standard diet, SLE supplementation combined with endurance training led to upregulation of FADS2 expression, although the Δ6-desaturase index remained unchanged. Interestingly, the proportion of C20:3n-6 decreased between the T and SPT groups, while an opposite trend was observed between the HFT and HFSPT groups. These findings suggest that SLE supplementation may enhance PUFA homeostasis through diet-dependent mechanisms, especially when combined with endurance training.

Furthermore, PPARα expression was upregulated in the HF group compared to the control, which is remarkable given that PPARα is typically downregulated in NAFLD and under lipotoxic conditions (Francque et al., 2015). Upregulation of PPARα in this context may represent a compensatory response to increased dietary fat intake, as previously reported in obese mice, where enhanced PPARα activity conferred protection against obesity and metabolic dysfunction (Huang et al., 2012). In contrast, SLE supplementation in the HFSP group led to a downregulation of PPARα, suggesting a protective effect against high fat diet induced stress, possibly mitigating the need for compensatory upregulation. Finally, while endurance training is generally associated with increased PPARα expression (Nikroo et al., 2020). in the present study with endurance training, PPARα was upregulated only in the presence of SLE

supplementation whatever diet. This suggests that SLE may modulate lipid metabolism by promoting PPARα-mediated fatty acid oxidation and potentially influencing desaturase gene expression, although no significant changes in FADS1 or FADS2 were detected in this condition.

In conclusion, the present findings indicate that SLE, either alone or combined with endurance training, exerts protective effects against hepatic lipid disturbances induced by a high fat diet, including NAFLD. SLE significantly reduces hepatic TG accumulation, modulates the expression and activity of key lipid metabolism regulators such as SCD1 and PPARα, and potentiates the metabolic benefits of endurance training. These results support the potential of SLE as a dietary intervention to prevent or attenuate liver steatosis and associated metabolic dysfunctions. Notably, the beneficial effects of SLE on hepatic fatty acid profiles may occur independently of direct modulation of fatty acid synthesis enzymes, suggesting the involvement of alternative regulatory pathways. However, further studies particularly in human subjects are warranted to confirm these effects, elucidate underlying mechanisms, determine optimal dosing, and evaluate long-term safety.

Bibliography

Alex, S., Boss, A., Heerschap, A., Kersten, S., 2015. Exercise training improves liver steatosis in mice. Nutr Metab (Lond) 12, 29. https://doi.org/10.1186/s12986-015-0026-1

ARAYA, J., RODRIGO, R., VIDELA, L.A., THIELEMANN, L., ORELLANA, M., PETTINELLI, P., PONIACHIK, J., 2004. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n−6/n−3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Clinical Science 106, 635–643. https://doi.org/10.1042/CS20030326

Athinarayanan, S., Fan, Y.-Y., Wang, X., Callaway, E., Cai, D., Chalasani, N., Chapkin, R.S., Liu, W., 2021. Fatty Acid Desaturase 1 Influences Hepatic Lipid Homeostasis by Modulating the PPARα-FGF21 Axis. Hepatology Communications 5, 461–477. https://doi.org/10.1002/hep4.1629

Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M.T., Lorenzini, A., Bandini, E., Angeloni, C., Hrelia, S., Malaguti, M., 2017. Effect of broccoli extract enriched diet on liver cholesterol oxidation in rats subjected to exhaustive exercise. J Steroid Biochem Mol Biol 169, 137–144. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.04.005

Carvalho, C.D. de, Filho, C.K., Rocha, A.D. da, Silva, A.S.R., Papoti, M., 2022. Glycogen Kinetics of Wistar Rats: Different Exercise Intensities and Tissue Analyzed Influence. International journal of exercise science 15, 289–299. https://doi.org/10.1038/s41598-023-36797-3

Choi, S.S., Diehl, A.M., 2008. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. Current Opinion in Lipidology 19, 295. https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3282ff5e55

Chooi, Y.C., Ding, C., Magkos, F., 2019. The epidemiology of obesity. Metabolism, Obesity: the 21st century epidemic 92, 6–10. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005

Cigrovski Berkovic, M., Bilic-Curcic, I., Mrzljak, A., Cigrovski, V., 2021. NAFLD and Physical Exercise: Ready, Steady, Go! Front. Nutr. 8. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.734859

Coué, M., Tesse, A., Falewée, J., Aguesse, A., Croyal, M., Fizanne, L., Chaigneau, J., Boursier, J., Ouguerram, K., 2019. Spirulina Liquid Extract Protects against Fibrosis Related to Non-Alcoholic Steatohepatitis and Increases Ursodeoxycholic Acid. Nutrients 11, 194. https://doi.org/10.3390/nu11010194

Delarue, J., LeFoll, C., Corporeau, C., 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, 289–299. https://doi.org/10.1051/rnd:2004033

Dong, G.J., Lv, C.X., Li, K.F., 2014. The Changes of Ultrastructure and Proteome Induced by Repeated Eccentric Exercise on of Rat Skeletal Muscle. Applied Mechanics and Materials 472, 792–800. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.472.792

Eggers, L.F., Schwudke, D., 2016. Liquid Extraction: Folch, in: Wenk, M.R. (Ed.), Encyclopedia of Lipidomics. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–6. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7864-1_89-1

Extier, A., Langelier, B., Perruchot, M.-H., Guesnet, P., Van Veldhoven, P.P., Lavialle, M., Alessandri, J.-M., 2010. Gender affects liver desaturase expression in a rat model of n-3 fatty acid repletion. J Nutr Biochem 21, 180–187. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.10.008

Fadaei Chafy, M.R., Bagherpour Tabalvandani, M.M., Elmieh, A., Arabzadeh, E., 2022. Determining the range of aerobic exercise on a treadmill for male Wistar rats at different ages: A pilot study. Journal of Exercise & Organ Cross Talk 2, 96–100. https://doi.org/10.22034/jeoct.2022.350369.1047

Ferreira, J.C.B., Rolim, N.P.L., Bartholomeu, J.B., Gobatto, C.A., Kokubun, E., Brum, P.C., 2007. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. Clin Exp Pharmacol Physiol 34, 760–765. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x

Ferro, D., Baratta, F., Pastori, D., Cocomello, N., Colantoni, A., Angelico, F., Del Ben, M., 2020. New Insights into the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Gut-Derived Lipopolysaccharides and Oxidative Stress. Nutrients 12, 2762. https://doi.org/10.3390/nu12092762

Flowers, M.T., 2009. The delta9 fatty acid desaturation index as a predictor of metabolic disease. Clin Chem 55, 2071–2073. https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.135152

Francque, S., Verrijken, A., Caron, S., Prawitt, J., Paumelle, R., Derudas, B., Lefebvre, P., Taskinen, M.-R., Van Hul, W., Mertens, I., Hubens, G., Van Marck, E., Michielsen, P., Van Gaal, L., Staels, B., 2015. PPARα gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. Journal of Hepatology 63, 164–173. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.02.019

Friedman, J.M., 2009. Causes and control of excess body fat. Nature 459, 340–342. https://doi.org/10.1038/459340a

Gaby, A.R., 2005. Adverse Effects of Dietary Fructose 10.

Gómez Rodríguez, A., Talamonti, E., Naudi, A., Kalinovich, A.V., Pauter, A.M., Barja, G., Bengtsson, T., Jacobsson, A., Pamplona, R., Shabalina, I.G., 2022. Elovl2-Ablation Leads to Mitochondrial Membrane Fatty Acid Remodeling and Reduced Efficiency in Mouse Liver Mitochondria. Nutrients 14, 559. https://doi.org/10.3390/nu14030559

Gutiérrez-Juárez, R., Pocai, A., Mulas, C., Ono, H., Bhanot, S., Monia, B.P., Rossetti, L., 2006. Critical role of stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) in the onset of diet-induced hepatic insulin resistance. J Clin Invest 116, 1686–1695. https://doi.org/10.1172/JCI26991

Hu, S., Wang, L., Yang, D., Li, L., Togo, J., Wu, Y., Liu, Q., Li, B., Li, M., Wang, G., Zhang, X., Niu, C., Li, J., Xu, Y., Couper, E., Whittington-Davies, A., Mazidi, M., Luo, L.,

Wang, S., Douglas, A., Speakman, J.R., 2018. Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes Adiposity in Mice. Cell Metabolism 28, 415-431.e4. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.06.010

Huang, J., Jia, Y., Fu, T., Viswakarma, N., Bai, L., Rao, M.S., Zhu, Y., Borensztajn, J., Reddy, J.K., 2012. Sustained activation of PPARα by endogenous ligands increases hepatic fatty acid oxidation and prevents obesity in ob/ob mice. FASEB J 26, 628–638. https://doi.org/10.1096/fj.11-194019

Jump, D.B., Botolin, D., Wang, Y., Xu, J., Christian, B., Demeure, O., 2005. Fatty Acid Regulation of Hepatic Gene Transcription12. The Journal of Nutrition 135, 2503–2506. https://doi.org/10.1093/jn/135.11.2503

Kasbi-Chadli, F., Coué, M., Aguesse, A., Grit, I., Souque, T., Ferchaud-Roucher, V., Ouguerram, K., 2021. Spirulina liquid extract prevents metabolic disturbances and improves liver sphingolipids profile in hamster fed a high-fat diet. Eur J Nutr 60, 4483–4494. https://doi.org/10.1007/s00394-021-02589-x

Kotronen, A., Seppänen-Laakso, T., Westerbacka, J., Kiviluoto, T., Arola, J., Ruskeepää, A.-L., Oresic, M., Yki-Järvinen, H., 2009. Hepatic stearoyl-CoA desaturase (SCD)-1 activity and diacylglycerol but not ceramide concentrations are increased in the nonalcoholic human fatty liver. Diabetes 58, 203–208. https://doi.org/10.2337/db08-1074

Kryściak, K., Majerczak, J., Kryściak, J., Łochyński, D., Kaczmarek, D., Drzymała-Celichowska, H., Krutki, P., Gawedzka, A., Guzik, M., Korostynski, M., Szkutnik, Z., Pyza, E., Jarmuszkiewicz, W., Zoladz, J.A., Celichowski, J., 2018. Adaptation of motor unit contractile properties in rat medial gastrocnemius to treadmill endurance training: Relationship to muscle mitochondrial biogenesis. PLOS ONE 13, e0195704. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195704

Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 25, 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Mantzaris, M.D., Tsianos, E.V., Galaris, D., 2011. Interruption of triacylglycerol synthesis in the endoplasmic reticulum is the initiating event for saturated fatty acid-induced lipotoxicity in liver cells. The FEBS Journal 278, 519–530. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07972.x

Matsuzaka, T., Shimano, H., Yahagi, N., Amemiya-Kudo, M., Yoshikawa, T., Hasty, A.H., Tamura, Y., Osuga, J., Okazaki, H., Iizuka, Y., Takahashi, A., Sone, H., Gotoda, T., Ishibashi, S., Yamada, N., 2002. Dual regulation of mouse Δ5- and Δ6-desaturase gene expression by SREBP-1 and PPARα. Journal of Lipid Research 43, 107–114. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)30193-0

Mayer, C., Côme, M., Ulmann, L., Chini Zittelli, G., Faraloni, C., Nazih, H., Ouguerram, K., Chénais, B., Mimouni, V., 2019. Preventive Effects of the Marine Microalga Phaeodactylum tricornutum, Used as a Food Supplement, on Risk Factors Associated with Metabolic Syndrome in Wistar Rats. Nutrients 11, 1069. https://doi.org/10.3390/nu11051069

Mayer, C., Côme, M., Ulmann, L., Martin, I., Zittelli, G.C., Faraloni, C., Ouguerram, K., Chénais, B., Mimouni, V., 2022. The Potential of the Marine Microalga Diacronema lutheri in the Prevention of Obesity and Metabolic Syndrome in High-Fat-Fed Wistar Rats. Molecules 27, 4246. https://doi.org/10.3390/molecules27134246

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), 2024. Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. Lancet 403, 1027–1050. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02750-2

Neuschwander-Tetri, B.A., 2010. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. Hepatology 52, 774–788. https://doi.org/10.1002/hep.23719

Nikroo, H., Hosseini, S.R.A., Fathi, M., Sardar, M.A., Khazaei, M., 2020. The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR-α, SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-induced NAFLD male rats. Physiology & Behavior 227, 113149. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113149

Ou, Y., Lin, L., Yang, X., Pan, Q., Cheng, X., 2013. Antidiabetic potential of phycocyanin: Effects on KKAy mice. Pharmaceutical Biology 51, 539–544. https://doi.org/10.3109/13880209.2012.747545

Sahoo, K., Sahoo, B., Choudhury, A.K., Sofi, N.Y., Kumar, R., Bhadoria, A.S., 2015. Childhood obesity: causes and consequences. Journal of Family Medicine and Primary Care 4, 187. https://doi.org/10.4103/2249-4863.154628

Santamarina, A.B., Moreira, R.G., Mennitti, L.V., Martins Ferreira, Y.A., Jucá, A., Prado, C.M., Pisani, L.P., 2025. Low-carbohydrate diet enriched with omega-3 and omega-9 fatty acids modulates inflammation and lipid metabolism in the liver and white adipose tissue of a mouse model of obesity. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 103932. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2025.103932

Silva, E. da, Maldonado, I.R. dos S.C., Matta, S.L.P. da, Maia, G.C., Bozi, L.H.M., Silva, K.A. da, Castro, C.A., Natali, A.J., 2011. Treinamento em natação com baixa intensidade não protege músculo esquelético contra lesões induzidas por exercício exaustivo em ratos. Rev Bras Med Esporte 17, 207–211. https://doi.org/10.1590/S1517-86922011000300012

Silva-Neto, A.F., Fratelli, C., Pucci, V.G., Boldarine, V.T., Ferreira, Y.A.M., Telles, M.M., Braga, A.R.C., Oyama, L.M., 2023. C-phycocyanin extracted from Spirulina using a green solvent approach presents an anti-obesity characteristic in mice fed a hyperlipidic diet. Journal of Functional Foods 108, 105747. https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105747

Singh, Z., Karthigesu, I.P., Singh, P., Kaur, R., 2014. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. Iranian Journal of Public Health 43, 7–16.

Slover, H.T., Lanza, E., 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. Journal of the American Oil Chemists' Society 56, 933. https://doi.org/10.1007/BF02674138

Suk, M., 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, 289–295. https://doi.org/10.5717/jenb.2015.15122303

Tao, L., Guo, X., Xu, M., Wang, Y., Xie, W., Chen, H., Ma, M., Li, X., 2021. Dexmedetomidine ameliorates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease by targeting SCD1 in obesity mice. Pharmacology Research & Perspectives 9, e00700. https://doi.org/10.1002/prp2.700

Tripathy, S., Lytle, K.A., Stevens, R.D., Bain, J.R., Newgard, C.B., Greenberg, A.S., Huang, L.-S., Jump, D.B., 2014. Fatty acid elongase-5 (Elovl5) regulates hepatic triglyceride catabolism in obese C57BL/6J mice[S]. Journal of Lipid Research 55, 1448–1464. https://doi.org/10.1194/jlr.M050062

Tsukamoto, H., 2005. Fat paradox in liver disease. The Keio Journal of Medicine 54, 190–192. https://doi.org/10.2302/kjm.54.190

Valenzuela, R., Barrera, C., Espinosa, A., Llanos, P., Orellana, P., Videla, L.A., 2015. Reduction in the desaturation capacity of the liver in mice subjected to high fat diet: Relation to

LCPUFA depletion in liver and extrahepatic tissues. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 98, 7–14. https://doi.org/10.1016/j.plefa.2015.04.002

Videla, L.A., Hernandez-Rodas, M.C., Metherel, A.H., Valenzuela, R., 2022. Influence of the nutritional status and oxidative stress in the desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids: Impact on non-alcoholic fatty liver disease. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 181, 102441. https://doi.org/10.1016/j.plefa.2022.102441

Vignaud, J., Loiseau, C., Côme, M., Martin, I., Rasoanarivo, R., Hérault, J., Mayer, C., Lépine, O., Ulmann, L., 2025. Combined Effects of Spirulina Liquid Extract and Endurance Training on Aerobic Performance and Muscle Metabolism Adaptation in Wistar Rats. Nutrients 17, 283. https://doi.org/10.3390/nu17020283

Vignaud, J., Loiseau, C., Hérault, J., Mayer, C., Côme, M., Martin, I., Ulmann, L., 2023. Microalgae Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions and Skeletal Muscular Oxidative Stress. Antioxidants 12, 1050. https://doi.org/10.3390/antiox12051050

Wang, Y., Botolin, D., Xu, J., Christian, B., Mitchell, E., Jayaprakasam, B., Nair, M., Peters, J.M., Busik, J., Olson, L.K., Jump, D.B., 2006. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. J Lipid Res 47, 2028–2041. https://doi.org/10.1194/jlr.M600177-JLR200

World Health Organization, 2024. Obesity and overweight [WWW Document]. URL https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight (accessed 11.29.24).

Wu, H., Jin, M., Han, D., Zhou, M., Mei, X., Guan, Y., Liu, C., 2015. Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway. Biochem Biophys Res Commun 458, 862–868. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.046

Yasari, S., Prud'homme, D., Wang, D., Jankowski, M., Levy, É., Gutkowska, J., Lavoie, J.-M., 2010. Exercise training decreases hepatic SCD-1 gene expression and protein content in rats. Mol Cell Biochem 335, 291–299. https://doi.org/10.1007/s11010-009-0279-y

Yki-Järvinen, H., Luukkonen, P.K., Hodson, L., Moore, J.B., 2021. Dietary carbohydrates and fats in nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 18, 770–786. https://doi.org/10.1038/s41575-021-00472-y

Zámbó, V., Simon-Szabó, L., Szelényi, P., Kereszturi, É., Bánhegyi, G., Csala, M., 2013. Lipotoxicity in the liver. World J Hepatol 5, 550–557. https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i10.550

VI. Discussion et perspectives

1. Discussion générale

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont permis d'évaluer les effets du SLE, dont la PC constitue le principal composé bioactif, dans divers contextes expérimentaux chez le rat jeune adulte. Différentes conditions nutritionnelles, incluant un régime standard ou obésogène, associés ou non à un entraînement en endurance, ont été mises en œuvre afin d'examiner les effets métaboliques et physiologiques du SLE. Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel du SLE en tant que complément nutritionnel d'intérêt en fonction des conditions expérimentales exploitées dans ces travaux.

Le SLE a été étudié dans divers contextes nutritionnels, révélant des interactions métaboliques complexes. Sous régime alimentaire standard, la supplémentation en SLE a entraîné une diminution de la glycémie à jeun accompagnée d'une augmentation de l'insulinémie, suggérant un effet préventif vis-à-vis du développement de l'obésité et du diabète de type 2. Toutefois, dans un contexte de régime obésogène, bien que la glycémie à jeun reste diminuée avec le SLE, l'effet observé lors du test de tolérance au glucose s'est révélé moins marqué. Par ailleurs, l'augmentation de l'insulinémie n'est pas observée au cours du régime HFHS, contrairement à ce qui a été observé dans le régime standard. Par comparaison, une autre étude a évalué l'efficacité du SLE chez la souris en utilisant deux concentrations de PC (60 et 300 mg/kg) dans le cadre d'une alimentation apportant 45 % de l'énergie sous forme de lipides, enrichie en cholestérol (2 %) et complétée par du fructose dans l'eau de boisson (42 g/L). Les résultats ont montré que, quelle que soit la concentration de SLE administrée, la glycémie à jeun était diminuée (Coué et al., 2019). De plus, l'insuline plasmatique et l'air sous la courbe au cours d'un IPGTT ont été diminuées seulement pour la concentration la plus élevée. Ces résultats suggèreraient donc que, dans nos conditions, le SLE aurait nécessité une concentration de PC plus élevée pour contrebalancer les effets d'une alimentation HFHS. D'autre part, lorsque le SLE est en faible concentration de PC, celui-ci pourrait agir *via* des mécanismes améliorant la sensibilité à l'insuline plutôt qu'en stimulant sa sécrétion. Cette hypothèse est renforcée par la diminution constante dans la présente étude de la glycémie à jeun observée dans les groupes supplémentés en SLE, indépendamment des taux d'insuline circulante. Par ailleurs, l'association du SLE avec l'entraînement a permis une amélioration du test de tolérance au glucose dans les deux régimes, marquée notamment par une réduction significative du pic glycémique à 15 minutes, témoignant d'un effet protecteur et synergique entre la supplémentation et l'entraînement. De plus, la diminution de la glycémie à jeun observé dans

les groupes supplémentés en SLE pourrait s'expliquer par une meilleure captation du glucose plasmatique suivi d'un stockage sous la forme de glycogène dans le muscle. En effet, il a été rapporté par Ou et al, que la PC augmentait les niveaux de glycogène musculaire chez des souris KKay, un modèle prédisposé à l'obésité. Ce résultat avait été interprété comme un effet de la PC pouvant contribuer à une diminution de la glycémie, améliorant ainsi l'homéostasie énergétique glucose–acides gras. Dans la présente étude, l'expression du gène Gys1, codant pour la glycogène synthase, a augmenté dans les conditions supplémentées en SLE. Cet effet pourrait être mis en lien avec les travaux précédents de Ou et al., et pourrait en partie expliquer la réduction observée de la glycémie à jeun, aussi bien dans un régime lipidique que standard. Par ailleurs, cet effet pourrait également être associé à l'amélioration de la VMA observée dans le groupe sous régime standard, ce test sollicitant fortement les réserves de glycogène musculaire pour maintenir un effort à haute intensité. Il aurait donc été pertinent dans cette étude de mesurer directement les niveaux de glycogène musculaire, afin de pouvoir confirmer ces hypothèses et mieux comprendre les mécanismes impliqués. D'autre part, il est important de considérer deux limites dans l'interprétation des résultats issue du GTT et de l'insulinémie. La première est que le test de tolérance au glucose a été réalisé par injection intrapéritonéale et non par voie orale, ce qui court-circuite la phase d'absorption intestinale. Or, cette étape est cruciale pour évaluer la réponse métabolique dans un contexte physiologique réaliste, notamment l'effet de composés susceptibles de moduler le microbiote ou la perméabilité intestinale, comme la PC (Xie et al., 2019). Deuxièmement, l'insulinémie n'a pas été mesurée le jour du GTT mais une semaine plus tard, au moment de la mise à mort des animaux. Ce décalage temporel ne permet pas de corréler précisément la réponse glycémique à la sécrétion insulinique induite par la charge en glucose, limitant ainsi l'interprétation fine de la sensibilité à l'insuline.

Par ailleurs, il a été observé une augmentation des TG plasmatiques avec le SLE dans le cadre d'un régime HFHS. Cette élévation pourrait s'expliquer par une stimulation de l'absorption intestinale des lipides due à la présence de PC contenue dans le SLE (Xie et al., 2019). Toutefois, cette augmentation des TG plasmatiques ne s'est pas accompagnée d'une accumulation hépatique de TG ni d'une prise de poids, ce qui suggère une mobilisation efficace des TG circulants, probablement liée à une augmentation de leur oxydation ou d'un découplage mitochondrial. En appui à cette hypothèse, l'expression du gène CPT1A, impliqué dans la β-oxydation des acides gras, était significativement augmentée dans le muscle SOL des rats supplémentés en SLE, quel que soit le régime alimentaire. Toutefois, cette hypothèse, reposant uniquement sur la mesure de l'expression génique de CPT1A, ne peut suffire à valider des

conclusions. La quantification de l'expression protéique de CPT1A par Western blot, ainsi que le dosage biochimique de l'activité de certaines enzymes responsables de la β-oxydation, auraient permis de renforcer et de confirmer ces résultats.

Un autre effet notable de la supplémentation en SLE concerne le HDL-cholestérol. En condition standard, l'entraînement en endurance tend à réduire les concentrations de HDL-cholestérol. Cet effet n'ayant pas été observé en présence de SLE, cela peut suggérer un rôle de sa part sur le profil lipoprotéique. Cette diminution s'est révélée encore plus marquée dans un contexte de régime obésogène, où l'association du SLE avec l'entraînement, a conduit à une augmentation significative des taux de HDL-cholestérol, reflétant une amélioration possible du transport inverse du cholestérol, un mécanisme reconnu pour ses effets cardioprotecteurs (Andraski et al., 2024; Barter et al., 2007). Parallèlement, les concentrations de Non-HDL-cholestérol ainsi que l'AIP ont diminué, renforçant l'hypothèse d'un effet synergique du SLE et de l'entraînement sur la réduction du risque cardiovasculaire.

L'évaluation de la capacité antioxydante du SLE a été réalisée par la mesure du MDA musculaire dans le SOL et l'EDL, ainsi que dans le foie. Dans le SOL, une diminution du MDA a été observée dans la condition entraînement, et dans l'EDL, une diminution avec et sans entraînement a été mesurée avec le SLE. Cette mesure permet de quantifier une conséquence du stress oxydant issu spécifiquement de la peroxydation des PUFA, montrant un effet antioxydant du SLE. En revanche, aucun effet du SLE dans le foie n'a été montré à travers le dosage du MDA. Toutefois, il a été observé une diminution du MDA dans le foie entre la condition contrôle et le régime HFHS qui pourrait s'expliquer par une teneur en AGPI faible dans le régime HFHS. En effet, la composition du régime A04 indique que 58,6 % des acides gras sont des AGPI (C18:2n-6 et C18:3 n-3), alors que celle du régime HF260 indique seulement 8,5 % (C18:2n-6 et C18:3 n-3), ce qui représente une teneur 85,5 % plus faible par rapport au régime standard. Ainsi, d'autres marqueurs, tels que les produits issus de la peroxydation des protéines comme les protéines carbonylées ou les dommages oxydatifs à l'ADN à travers le dosage du 8-Hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), auraient permis de renforcer l'évaluation de la capacité antioxydante du SLE. Par ailleurs, la mesure de l'activité des enzymes antioxydantes, telles que la SOD et la GPx, aurait été utile pour mieux comprendre le mode d'action du SLE, notamment pour déterminer s'il agit en augmentant l'expression ou l'activité de ces enzymes, ou s'il exerce un effet antioxydant direct par sa propre structure chimique. Ces mesures sont nécessaires pour identifier les effets antioxydants du SLE. En effet, lorsqu'il est administré seul, certains effets ont été identifiés, mais ils peuvent s'atténuer lorsqu'ils sont co-administrés avec un programme d'entraînement. Une hypothèse probable est

l'interférence avec les signaux adaptatifs induits par les ERO. Des études montrent que les antioxydants peuvent bloquer la biogenèse mitochondriale et les adaptations vasculaires à l'exercice (Ristow et al., 2009; Strobel et al., 2011), alors que d'autres composés comme la PC semblent activer des voies protectrices spécifiques (Nrf2, AKT/mTOR) sans interférer (Liu et al., 2022). Il est donc crucial de caractériser les mécanismes d'action du SLE pour concevoir des protocoles d'administration permettant d'optimiser la synergie avec l'exercice.

Dans les présents travaux, l'effet du SLE a été principalement évalué à travers des mesures d'expressions géniques de marqueurs de voies métaboliques. Bien que ces données apportent des indications sur les niveaux de transcription des gènes d'intérêt, elles ne permettent pas de conclure sur la traduction protéique effective ni sur l'activité fonctionnelle des voies biologiques impliquées. Il reste donc possible que les effets du SLE observés sur l'expression génique ne se traduisent pas systématiquement par des modifications protéiques ou physiologiques mesurables.

Parmi les limites de notre modèle expérimental, le régime HFHS utilisé dans cette étude n'a pas induit les altérations métaboliques comme rapportés dans la littérature, telles qu'une augmentation du profil lipidique plasmatique (Joerin et al., 2014), une sous-expression de PPARα dans le foie (Song et al., 2014), et une sous-expression d'IRSI (Lei et al., 2023) et de GLUT4 (Kim et al., 1994) dans le SOL. Ces effets induit par un régime lipidique sont souvent associés à des phénomènes de lipotoxicité (Lipke et al., 2022). D'après nos résultats, une des explications serait que notre modèle animal a été en mesure de compenser en partie les effets du régime HFHS, rendant plus difficile l'identification des effets protecteurs du SLE comme cela a été suggéré précédemment (Pataky et al., 2017). Ce phénomène compensatoire pourrait être lié au contexte physiologique particulier de notre modèle, constitué de jeunes rats en période de transition entre l'adolescence et le jeune âge adulte, une phase caractérisée par une croissance active et une plasticité métabolique élevée. Cette spécificité métabolique pourrait expliquer certains mécanismes d'adaptation observés dans notre étude. En effet, les enfants prépubères présentent des taux relatifs d'oxydation lipidique nettement supérieurs à ceux des adultes, et cela sur une large gamme d'intensités d'exercice. De plus, l'intensité d'exercice correspondant au pic d'oxydation lipidique (Fatmax) est plus élevée chez les enfants que chez les hommes adultes, traduisant une meilleure capacité à mobiliser les lipides comme substrat énergétique. À l'inverse, cette aptitude diminue progressivement avec la puberté pour atteindre, à l'adolescence, des niveaux proches de ceux des adultes (Riddell et al., 2008). Aussi, la forte capacité d'oxydation lipidique des enfants est considérée comme un facteur protecteur vis-à-vis de l'obésité et des troubles métaboliques, contrairement aux adultes dont le métabolisme

repose davantage sur la glycolyse. Par ailleurs, les études menées chez l'adulte montrent qu'avec l'avancée en âge survient une baisse progressive du renouvellement protéique et du métabolisme de repos, reflétant une réduction de la capacité de remodelage tissulaire. Ce ralentissement contribue à l'accumulation de protéines altérées, à une diminution de la qualité des tissus et à une vulnérabilité accrue face aux désordres métaboliques (Short et al., 2004).

De ce fait, la situation des enfants apparaît comme l'opposé de celle du vieillissement : leur métabolisme flexible, marqué par une oxydation lipidique élevée et un fort potentiel adaptatif, leur confère une protection contre l'obésité et le diabète. À l'inverse, la puberté et l'âge adulte s'accompagnent d'une perte progressive de ces mécanismes protecteurs. Dans ce contexte, l'activité physique représente une stratégie essentielle pour compenser ce déclin et maintenir un profil métabolique favorable tout au long de la vie. En conséquence, les adaptations observées dans notre modèle pourraient être attribuées à cette plasticité métabolique propre aux jeunes animaux, leur permettant de mieux prévenir et compenser les altérations induites par le régime HFHS. Il est plausible qu'une prolongation de la durée d'exposition nutritionnelle (par exemple jusqu'à 25 semaines) aurait réduit l'efficacité des mécanismes compensatoires observés dans notre modèle, conduisant potentiellement à l'installation d'un stress oxydant (Ciapaite et al., 2011). Toutefois, dans le cadre de la présente étude, dont l'objectif était d'évaluer les effets préventifs du SLE durant la transition de la période juvénile au jeune âge adulte, il n'était pas envisageable d'allonger la durée du régime expérimental. Ainsi, l'utilisation de sources lipidiques différentes dans le régime HFHS, telles que le lard, ou encore l'enrichissement en cholestérol, aurait pu constituer un stress métabolique supplémentaire permettant de mieux mettre en évidence les effets protecteurs du SLE. En effet, il a été démontré que le beurre (utilisé dans ces travaux), en tant que source lipidique dans les régimes expérimentaux animaux, induit des perturbations phospholipidiques ainsi qu'une accumulation lipidique dans le muscle. En revanche, lorsque les lipides proviennent du lard, il est observé une accumulation lipidique plus marquée dans le foie et le muscle, associée au développement d'une stéatose hépatique (Brigant and Lowy, 1966). De plus, une autre étude a montré que les lipides issus du lard, comparés à ceux de l'huile de palme, pouvaient induire des perturbations fonctionnelles plus importantes au niveau du tissu hépatique ainsi qu'une altération de la sensibilité à l'insuline (Janssens et al., 2015). Ainsi, l'utilisation du lard aurait pu permettre d'induire des altérations métaboliques sur le métabolisme énergétique plus importante que le beurre.

Concernant l'hébergement des animaux, des groupes de quatre par cage ont été consitués, ce qui constitue une pratique courante en recherche afin de respecter les règles de bien-être animal

et de réduire les comportements de dominance, souvent observés lorsqu'ils sont logés par deux ou trois. Toutefois, l'administration du SLE *via* l'eau de boisson ne permettait pas de quantifier précisément la consommation individuelle de chaque rat. Ce choix d'hébergement collectif représentait donc un compromis à la fois éthique et pratique. De plus, comme les animaux appartenaient à la même souche et présentaient des caractéristiques initiales homogènes (âge, poids), il est probable que les différences individuelles de consommation d'eau soient restées limitées, rendant les estimations par cage relativement représentatives. Ainsi, bien que cette limite doive être prise en compte dans l'interprétation des données, il est peu probable qu'elle puisse remmettre en cause les résultats observés dans l'étude.

Dans une perspective de prévention nutritionnelle, on pourrait considérer que notre protocole d'entraînement n'est pas directement transposable à l'humain, notamment chez des individus ayant une condition physique limitée et nécessitant des intensités plus faibles. Néanmoins, en termes de volume, il est comparable aux recommandations et aux pratiques rapportées dans les études cliniques visant la prise en charge du surpoids et de l'obésité, qui préconisent en moyenne environ 5 heures d'exercice hebdomadaire à intensité faible à modérée (Oppert et al., 2021; Soriano-Maldonado et al., 2020). Dans notre protocole, les animaux réalisaient en moyenne une heure de course par jour, ce qui représente un volume d'entraînement comparable. Cependant, la durée de course chez le rat n'est pas directement transposable à l'humain. Pour pallier cette limite, l'intensité de l'exercice a été normalisée en fonction d'un pourcentage de la VMA, ce qui permet d'assurer une meilleure transposabilité de la charge relative entre rat et homme (Goutianos et al., 2015). Ainsi, le dispositif expérimental retenu peut être considéré comme un compromis pertinent, permettant d'explorer simultanément les effets de l'entraînement dans une perspective de performance (grâce à l'utilisation de la VMA pour ajuster l'intensité) et dans une perspective de prévention santé (via un volume d'entraînement comparable aux recommandations cliniques).

2. Perspectives

Cette étude a mis en évidence l'intérêt du SLE, notamment dans un contexte de régime équilibré, où il améliore la régulation de la glycémie, les capacités physiques ainsi que la réponse au stress oxydatif induit par l'exercice.

Dans le modèle soumis à un régime HFHS, la supplémentation en SLE a permis de réduire la glycémie à jeun. De plus, lorsqu'elle est associée à l'entraînement, une amélioration

significative de la tolérance au glucose a été observée. L'analyse de l'expression génique dans le tissu musculaire suggère l'implication de voies métaboliques alternatives, potentiellement indépendantes de l'insuline, telles que la voie Rac1. Des mesures d'expression de Rac1 (protéique et génique) seraient nécessaires afin de vérifier cette hypothèse.

Par ailleurs, bien que le SLE ait induit une augmentation des TG plasmatiques, aucun effet délétère sur le poids corporel ou la stéatose hépatique n'a été constaté, ce qui pourrait témoigner d'une mobilisation accrue des acides gras et d'une amélioration de leur utilisation. Ces observations ouvrent des perspectives intéressantes pour étudier l'impact du SLE sur l'absorption intestinale des TG issus du régime lipidique, ainsi que sur la composition du microbiote intestinal et son rôle sur ces mécanismes d'absorption. En effet, sur le plan de l'absorption lipidique, l'utilisation de traceurs isotopiques permettrait de suivre l'incorporation des lipides dans le sang, les chylomicrons et les tissus cibles (Li et al., 2016). De plus, des analyses lipidiques par extraction, dosage enzymatique ou chromatographie, permettraient de quantifier l'absorption et le métabolisme des TG. Parallèlement, l'étude de l'expression des transporteurs et enzymes clés de l'absorption lipidique, tels que CD36/FAT et FABP par qPCR ou Western blot, permettrait d'obtenir des informations sur les mécanismes moléculaires impliqués. Concernant le microbiote intestinal, le séquençage 16S rRNA fournirait une analyse taxonomique et quantitative des bactéries intestinales, permettant d'évaluer spécifiquement les familles bénéfiques comme les *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae* ou *Ruminococcaceae* (Turnbaugh et al., 2006). Des approches plus poussées, telles que la métagénomique shotgun, permettraient d'étudier la fonctionnalité du microbiote, en identifiant les voies métaboliques capables d'influencer l'absorption lipidique (Qin et al., 2010). L'analyse métabolomique des fèces, notamment la quantification des acides gras à chaîne courte et des acides biliaires, pourrait compléter ces informations en mettant en évidence les métabolites microbiens modulant le transport intestinal des lipides (Koh et al., 2016). Enfin, des modèles expérimentaux tels que la transplantation fécale ou les modèles gnotobiotiques permettraient de relier directement la composition du microbiote aux effets observés sur l'absorption lipidique (Bäckhed et al., 2004).

La surexpression de CPT1A, un gène clé de l'oxydation des acides gras via la β-oxydation, suggère une possible activation du découplage mitochondrial, un mécanisme qui pourrait contribuer aux effets protecteurs observés. Il serait pertinent d'approfondir cette voie métabolique en analysant directement la fonction mitochondriale, notamment à l'aide de mitochondries isolées étudiées par oxymétrie de haute résolution, afin d'identifier l'effet du SLE (Long et al., 2019). De part ce résultat, d'autres perspectives peuvent également être

envisagées, notamment dans des contextes d'exercice d'endurance à intensité modérée, où la mobilisation des lipides comme substrat énergétique est prédominante. Dans cette optique, il serait particulièrement pertinent, dans de futurs travaux, d'évaluer l'impact du SLE non seulement sur la $\dot{V}O_2max$, mais surtout sur des paramètres de performance à intensité sous-maximale et de flexibilité métabolique. En effet, comme le suggère l'étude de Vollaard et al., l'amélioration des performances d'endurance n'est pas strictement corrélée aux variations de la $\dot{V}O_2max$, mais repose largement sur des adaptations périphériques musculaires (Vollaard et al., 2009). Celles-ci concernent en particulier la capacité du muscle à réguler son métabolisme énergétique, à optimiser l'oxydation des substrats (glucides et lipides) et à limiter l'accumulation de lactate lors d'un effort prolongé. Ainsi, une exploration ciblée de la flexibilité métabolique (par exemple *via* la mesure du quotient respiratoire, de la cinétique lactate, ou du profil d'oxydation lipidique en condition sous-maximale) permettrait de mieux caractériser l'effet du SLE sur le fonctionnement musculaire au-delà de la $\dot{V}O_2max$. L'analyse de ces variables fournirait un cadre plus pertinent pour comprendre comment le SLE peut favoriser l'utilisation des lipides comme substrat énergétique au cours d'un exercice d'endurance. Par conséquent, en situation d'obésité, ce type d'entraînement pourrait favoriser la perte de masse grasse via une mobilisation accrue des lipides (Chávez-Guevara et al., 2021). L'application du SLE pourrait renforcer et potentialiser ces mécanismes. Sous l'effet du régime HFHS, la surexpression de p38 MAPK, reflétant un stress cellulaire, a été réduit par la supplémentation en SLE. De plus, la supplémentation a réduit l'expression de PGC1α en présence d'entraînement, souvent activée en réponse à un stress oxydant issu de l'exercice. Ces deux observations suggèrent que le SLE exerce un effet antioxydant, modulant les voies de signalisation impliquées dans les adaptations musculaires, possiblement en atténuant l'accumulation d'ERO nécessaire à l'activation de certaines réponses adaptatives. Toutefois, afin de confirmer cette hypothèse, il serait pertinent de compléter ces résultats par le dosage des enzymes antioxydantes telles que la GPx, la SOD, la CAT, ainsi que les niveaux de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Dans une perspective plus intégrative, il serait pertinent d'élargir le panel de biomarqueurs utilisés. En complément des LDL oxydées ou des isoprostanes, des marqueurs tels que le 4-HNE (Cipak Gasparovic et al., 2017) ou encore la 3-nitrotyrosine (Condezo-Hoyos et al., 2013) pourraient affiner la caractérisation du stress oxydatif lipidique et nitrosatif au niveau des tissus musculaire et hépatique. Par ailleurs, l'analyse de la carbonylation des protéines, des AOPPs (Advanced Oxidation Protein Product) (Condezo-Hoyos et al., 2013) ou de l'ADN oxydé (Korkmaz et al., 2018) via le dosage de 8-OHdG ou du γ-H2AX permettrait de mieux cerner l'étendue des dommages moléculaires systémiques. De plus, Il serait

intéressant d'effectuer une étude comparative évaluant les effets antioxydant du SLE sur la fonction et croissance musculaire. En effet l'étude de Arc-Chagnaud et al., a démontré qu'un cocktail antioxydant a permis de réduire le stress oxydatif et certains dommages moléculaires dans les muscles. Cependant, il n'a pas empêché la perte de masse ni la diminution de la force musculaire au cours du vieillissement. Au contraire, il a pu accentuer l'atrophie musculaire et perturber les processus de récupération. Ces résultats suggèrent qu'un excès d'antioxydants peut provoquer un « stress réductif », empêchant les effets bénéfiques des ERO et ERA nécessaires aux adaptations physiologiques (Arc-Chagnaud et al., 2020). De ce fait, en raison de son activité antioxydante, il est important d'étudier le mécanisme d'action du SLE afin d'évaluer son efficacité sur la fonction et la croissance musculaire. Les travaux obtenus dans la présente étude, ont montré que, sous condition SLE combinée à un entraînement, l'expression génique de PGC1α pouvait être réduite. Cette diminution pourrait s'expliquer soit par un effet inhibiteur direct du SLE, soit par un phénomène d'adaptation musculaire accélérée. En effet, PGC-1α peut être stimulé par divers facteurs, tels que l'exercice ou les oméga-3 (Mthembu et al., 2024). Pour identifier les mécanismes moléculaires sous-jacents, il serait pertinent de mesurer l'expression d'autres protéines et gènes impliqués dans ses voies de signalisation, notamment AMPK et SIRT1. Par ailleurs, évaluer l'expression de PGC-1α à différents temps après un exercice aigü ou chronique sous SLE permettrait de déterminer si le SLE agit en accélérant ou en inhibant cette expression. Concernant les résultats obtenus sur le modèle hépatique, il aurait été pertinent d'évaluer également des marqueurs centraux de la lipogenèse, tels que SREBP-1c, ACC et FAS. Ces régulateurs jouent un rôle clé dans le contrôle transcriptionnel et enzymatique de la synthèse *de novo* des acides gras, en amont des enzymes d'élongation et de désaturation. Leur analyse aurait permis de distinguer d'éventuels effets spécifiques sur certaines étapes métaboliques (Xu et al., 1999). Une telle approche aurait permis de déterminer si les effets du SLE observés sont liés à une modulation des régulateurs transcriptionnels en amont ou s'ils reflètent des ajustements plus ciblés au niveau des enzymes effectrices, comme les élongases et désaturases. De plus, il est possible que les marqueurs centraux de la lipogenèse tels que SREBP-1c, ACC et FAS aient été modulés par le SLE, ce qui pourrait expliquer en partie la diminution des TG hépatiques mesurée en condition SLE. En effet, il est bien établi que SREBP-1c régule directement l'expression de ACC et FAS, des enzymes clés de la synthèse *de novo* des acides gras, qui alimentent ensuite la production de TG (Jensen-Urstad and Semenkovich, 2012; Li et al., 2014; Mao et al., 2006). Ainsi, l'inhibition de cette voie transcriptionnelle entraîne une réduction de la lipogenèse et de l'accumulation

lipidique (TG) dans le foie. Les mesures d'expression génique et protéique de ces régulateurs seraient donc intéressantes dans de futurs travaux.

Dans les travaux présentés, un axe de recherche n'a pas été exploré : la relation bidirectionnelle entre le muscle squelettique et le foie. Ces deux tissus communiquent via des myokines et hepatokines, permettant à chacun d'influencer le métabolisme de l'autre (Chen et al., 2024). Dans une perspective inter-organes, il serait intéressant de mesurer certaines hepatokines, telles que Fetuin-A ou Adropin, connues pour moduler le métabolisme du glucose dans le muscle (Chen et al., 2024). De la même manière, l'évaluation de myokines comme IL-6 ou Irisine, sécrétées par le muscle et ayant un impact sur la sensibilité à l'insuline hépatique, pourrait mettre en évidence les variations de l'axe muscle–foie (Chen et al., 2024). Ces paramètres pourraient être modulés par l'entraînement, l'administration de SLE ou la combinaison des deux. La compréhension de ces mécanismes pourrait permettre d'identifier des cibles thérapeutiques potentielles pour la prévention ou la prise en charge de l'obésité et du diabète, dans une approche intégrative centrée sur la communication inter-organes.

D'autre part, le choix d'analyser deux muscles aux profils phénotypiques distincts, le SOL et l'EDL, apparaît pertinent. En effet, l'EDL est constitué majoritairement de fibres glycolytiques de type II (Komiya et al., 2017) et est couramment utilisé dans les études nutritionnelles pour évaluer les spécificités métaboliques des fibres rapides, indépendamment d'un contexte d'exercice ou d'entraînement (Ogura et al., 2020). Cependant, dans le cadre d'activités locomotrices telles que la course, l'EDL n'est pas le muscle le plus sollicité. Ainsi, pour mieux cibler les adaptations liées à l'exercice et à une éventuelle supplémentation, il serait pertinent de réaliser des mesures sur la portion blanche du muscle gastrocnémien, directement impliqué dans ce type d'effort.

Les résultats obtenus positionnent le SLE comme un candidat prometteur dans une approche nutritionnelle préventive des troubles métaboliques, en particulier lorsqu'il est associé à une activité physique régulière. Néanmoins, certains résultats, notamment la diminution de l'expression de gènes liés aux adaptations musculaires (tels que P38 MAPK et PGC1α) en condition d'entraînement, suggèrent que le SLE pourrait interférer avec ces mécanismes adaptatifs. Cela soulève des interrogations quant à son utilisation dans un contexte de performance. Il serait pertinent d'évaluer les effets d'une supplémentation antioxydante aiguë et ponctuelle (par exemple, une à deux fois par semaine, et en dehors des séances d'entraînement) afin de limiter un potentiel effet inhibiteur sur les voies métaboliques adaptatives. En effet, plusieurs études montrent qu'une prise aiguë d'antioxydants autour de l'exercice peut temporairement améliorer la récupération ou retarder la fatigue, sans

nécessairement altérer les adaptations à long terme (Canals-Garzón et al., 2022; Higgins et al., 2020). En revanche, une supplementation chronique est souvent associée à une atténuation des adaptations d'entraînement, notamment au niveau de la biogenèse mitochondriale, de la signalisation de PGC1α ou de la fonction vasomotrice (Merry and Ristow, 2016; Peternelj and Coombes, 2011). Ainsi, une mise au point sur la supplémentation en antioxydants associée à l'entraînement apparaît nécessaire, afin de déterminer des modalités de prise optimales en fonction du contexte d'exercice ou du type de programme d'entraînement. Cette suggestion s'applique au SLE qui est considéré de part sa richesse en PC comme un antioxydant pouvant altérer sur du long terme les adaptations musculaires. Ainsi, des mesures complémentaires sont requises pour confirmer ces effets et approfondir la compréhension des mécanismes d'action impliqués. Le modèle combinant supplémentation en SLE et entraînement physique ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de stratégies thérapeutiques visant à potentialiser les bénéfices de l'exercice tout en atténuant le stress oxydatif et l'inflammation qui lui sont parfois associés.

Évaluer l'efficacité du SLE chez l'humain constituerait également une étape essentielle. Bien que les résultats obtenus dans un modèle murin soient encourageants, des études cliniques sont nécessaires pour valider ses effets sur la régulation de la glycémie, l'amélioration de la performance physique et la prévention des pathologies métaboliques. Comme démontré dans la partie « matériels et méthodes » de ce travail, la dose potentielle et pertinente pour une étude clinique a été estimée à environ 124 mg de PC par jour. Au regard de la littérature, les doses de spiruline utilisées en clinique apportent une dose de PC nettement supérieure à celle suggérée précédemment. En effet, la bonne tolérance de la spiruline chez l'adulte sain permet d'atteindre des doses de 1 à 7 g/jour, soit environ 150 mg à 1 g de PC, en considérant que la PC représente 10 à 20 % du poids sec de la spiruline. Toutefois, les données spécifiques sur la PC isolée et sa tolérance sont plus limitées, bien qu'une bonne tolérance soit généralement décrite. Ainsi, pour de futures études cliniques, il serait possible, de par cette bonne tolérance, d'envisager l'utilisation de doses plus élevées de SLE ou de PC afin de potentiellement observer des effets plus marqués et représentatifs. D'autre part, il est important de noter que la présente étude s'inscrit dans une démarche d'évaluation du rôle préventif du SLE face aux troubles métaboliques induits par une alimentation déséquilibrée. L'essai clinique réalisé par Koite et al., chez des patients présentant un syndrome métabolique a mis en évidence plusieurs effets bénéfiques d'une supplémentation en SLE pendant 12 semaines. Celle-ci a entraîné une diminution significative des concentrations urinaires d'isoprostanes sur 24 h, traduisant une amélioration du statut oxydatif, ainsi qu'une réduction des TG plasmatiques et une

augmentation du HDL-cholestérol. En revanche, aucun effet n'a été observé sur le ratio oxLDL/LDL, ni sur la glycémie et l'insulinémie à jeun. Concernant la fonction hépatique, une tendance à la baisse du Fatty Liver Index (FLI) a été observée dans le groupe SLE, sans différence significative par rapport au placebo, probablement en raison de la dose administrée ou de la taille de l'échantillon. Enfin, la supplémentation a été bien tolérée, sans effet indésirable rapporté (Koite et al., 2022). Ces résultats indiquent qu'il serait pertinent, afin de compléter ou d'approfondir les études humaines sur le syndrome métabolique, d'évaluer les effets du SLE dans des modèles animaux selon une approche curative, en présence ou en absence d'exercice. Une augmentation des doses pourrait également être envisagée, compte tenu du bon profil de tolérance rapporté, afin de déterminer si des effets plus marqués peuvent être observés, comme cela a été suggéré par l'essai clinique de Koite. Un tel objectif pourrait ensuite être transposé à l'humain, en ciblant des populations atteintes de troubles métaboliques liés à l'obésité ou au diabète, et désireuses d'avoir recours à des compléments nutritionnels scientifiquement validés pour en atténuer les effets. Une exploration plus poussée demeure donc indispensable pour envisager son application dans un cadre clinique.

VII. Bibliographie

A

Aas, V., Kase, E.T., Solberg, R., Jensen, J., Rustan, A.C., 2004. Chronic hyperglycaemia promotes lipogenesis and triacylglycerol accumulation in human skeletal muscle cells. Diabetologia 47, 1452–1461. https://doi.org/10.1007/s00125-004-1465-9

Aas, V., Thoresen, G.H., Rustan, A.C., Lund, J., 2020. Substrate oxidation in primary human skeletal muscle cells is influenced by donor age. Cell Tissue Res 382, 599–608. https://doi.org/10.1007/s00441-020-03275-w

Adebayo, M., Singh, S., Singh, A.P., Dasgupta, S., 2021. Mitochondrial Fusion and Fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis. FASEB J 35, e21620. https://doi.org/10.1096/fj.202100067R

Adeva-Andany, M., López-Ojén, M., Funcasta-Calderón, R., Ameneiros-Rodríguez, E., Donapetry-García, C., Vila-Altesor, M., Rodríguez-Seijas, J., 2014. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. Mitochondrion 17, 76–100. https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.05.007

Adeva-Andany, M.M., Pérez-Felpete, N., Fernández-Fernández, C., Donapetry-García, C., Pazos-García, C., 2016. Liver glucose metabolism in humans. Bioscience Reports 36, e00416. https://doi.org/10.1042/BSR20160385

Ahmad, S.S., Ahmad, K., Lee, E.J., Lee, Y.-H., Choi, I., 2020. Implications of Insulin-Like Growth Factor-1 in Skeletal Muscle and Various Diseases. Cells 9, 1773. https://doi.org/10.3390/cells9081773

Ahsan, M., Habib, B., Mashuda, P., 2008. A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish, FAO Fisheries and Aquaculture Circular. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Alghannam, A., Jedrzejewski, D., Tweddle, M.G., Gribble, H., Bilzon, J., Thompson, D., Tsintzas, K., Betts, J.A., 2016. Impact of muscle glycogen availability on the capacity for repeated exercise in man. Medicine & Science in Sports & Exercise 48, 123–131. https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000737

Alghannam, A.F., Ghaith, M.M., Alhussain, M.H., 2021. Regulation of Energy Substrate Metabolism in Endurance Exercise. International Journal of Environmental Research and Public Health 18, 4963. https://doi.org/10.3390/ijerph18094963

Alimentation saine [WWW Document], n.d. URL https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet (accessed 2.26.25).

Allen, P.S., Matheson, G.O., Zhu, G., Gheorgiu, D., Dunlop, R.S., Falconer, T., Stanley, C., Hochachka, P.W., 1997. Simultaneous 31P MRS of the soleus and gastrocnemius in Sherpas during graded calf muscle exercise. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 273, R999–R1007. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.3.R999

Alvaro, C. de, Teruel, T., Hernandez, R., Lorenzo, M., 2004. Tumor Necrosis Factor α Produces Insulin Resistance in Skeletal Muscle by Activation of Inhibitor κB Kinase in a p38 MAPK-dependent Manner *. Journal of Biological Chemistry 279, 17070–17078. https://doi.org/10.1074/jbc.M312021200

Alves-Bezerra, M., Cohen, D.E., 2017. Triglyceride metabolism in the liver. Compr Physiol 8, 1–8. https://doi.org/10.1002/cphy.c170012

Ambroselli, D., Masciulli, F., Romano, E., Catanzaro, G., Besharat, Z.M., Massari, M.C., Ferretti, E., Migliaccio, S., Izzo, L., Ritieni, A., Grosso, M., Formichi, C., Dotta, F., Frigerio, F., Barbiera, E., Giusti, A.M., Ingallina, C., Mannina, L., 2023. New Advances in Metabolic Syndrome, from Prevention to Treatment: The Role of Diet and Food. Nutrients 15, 640. https://doi.org/10.3390/nu15030640

Amin, M.N., Hussain, Md.S., Sarwar, Md.S., Rahman Moghal, Md.M., Das, A., Hossain, M.Z., Chowdhury, J.A., Millat, Md.S., Islam, M.S., 2019. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews 13, 1213–1224. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.01.041

Andolfi, C., Fisichella, P.M., 2018. Epidemiology of Obesity and Associated Comorbidities. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 28, 919–924. https://doi.org/10.1089/lap.2018.0380

Andrade, F.H., Reid, M.B., Westerblad, H., 2001. Contractile response of skeletal muscle to low peroxide

concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation. FASEB J 15, 309–311. https://doi.org/10.1096/fj.00-0507fje

Andraski, A.B., Sacks, F.M., Aikawa, M., Singh, S.A., 2024. Understanding HDL Metabolism and Biology Through In Vivo Tracer Kinetics. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 44, 76–88. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.319742

ANSES, 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras.

Apovian, C.M., 2016. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. Am J Manag Care 22, s176-185.

ARAYA, J., RODRIGO, R., VIDELA, L.A., THIELEMANN, L., ORELLANA, M., PETTINELLI, P., PONIACHIK, J., 2004. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n−6/n−3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Clinical Science 106, 635–643. https://doi.org/10.1042/CS20030326

Arc-Chagnaud, C., Py, G., Fovet, T., Roumanille, R., Demangel, R., Pagano, A.F., Delobel, P., Blanc, S., Jasmin, B.J., Blottner, D., Salanova, M., Gomez-Cabrera, M.-C., Viña, J., Brioche, T., Chopard, A., 2020. Evaluation of an Antioxidant and Anti-inflammatory Cocktail Against Human Hypoactivity-Induced Skeletal Muscle Deconditioning. Front Physiol 11, 71. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00071

Arkinstall, M.J., Bruce, C.R., Clark, S.A., Rickards, C.A., Burke, L.M., Hawley, J.A., 2004. Regulation of fuel metabolism by preexercise muscle glycogen content and exercise intensity. Journal of Applied Physiology 97, 2275–2283. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00421.2004

Aronica, L., Ordovas, J.M., Volkov, A., Lamb, J.J., Stone, P.M., Minich, D., Leary, M., Class, M., Metti, D., Larson, I.A., Contractor, N., Eck, B., Bland, J.S., 2022. Genetic Biomarkers of Metabolic Detoxification for Personalized Lifestyle Medicine. Nutrients 14, 768. https://doi.org/10.3390/nu14040768

Askin, L., Tanriverdi, O., 2023. Is the Atherogenic Index of Plasma (AIP) a Cardiovascular Disease Marker? Cor et Vasa 65, 100–103. https://doi.org/10.33678/cor.2022.085

Athinarayanan, S., Fan, Y.-Y., Wang, X., Callaway, E., Cai, D., Chalasani, N., Chapkin, R.S., Liu, W., 2021. Fatty Acid Desaturase 1 Influences Hepatic Lipid Homeostasis by Modulating the PPARα-FGF21 Axis. Hepatology Communications 5, 461–477. https://doi.org/10.1002/hep4.1629

AVIS de l'Anses relatif aux risques relatifs à la consommation de compléments alimentaires contenant de la spiruline [WWW Document], 2017. . Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. URL https://www.anses.fr/fr/content/avis-de-lanses-relatif-aux-risques-relatifs-%C3%A0-la-consommation-de-compl%C3%A9ments-alimentaires (accessed 7.25.25).

B

Babadzhanov, A.S., Abdusamatova, N., Yusupova, F.M., Faizullaeva, N., Mezhlumyan, L.G., Malikova, M.Kh., 2004. Chemical Composition of Spirulina platensis Cultivated in Uzbekistan. Chemistry of Natural Compounds 40, 276–279. https://doi.org/10.1023/B:CONC.0000039141.98247.e8

Bacou, F., Vigneron, P., 1988. Propriétés des fibres musculaires squelettiques. 1. Influence de l'innervation motrice. Reproduction Nutrition Développement 28, 1387–1453.

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., Gordon, J.I., 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc Natl Acad Sci U S A 101, 15718–15723. https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101

Bagheri, R., Robinson, I., Moradi, S., Purcell, J., Schwab, E., Silva, T., Baker, B., Camera, D.M., 2022. Muscle Protein Synthesis Responses Following Aerobic-Based Exercise or High-Intensity Interval Training with or Without Protein Ingestion: A Systematic Review. Sports Med 52, 2713–2732. https://doi.org/10.1007/s40279-022-01707-x

Bailey, A., Mohiuddin, S.S., 2025. Biochemistry, High Density Lipoprotein, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Balani, R., Herrington, H., Bryant, E., Lucas, C., Kim, S.C., 2019. Nutrition knowledge, attitudes, and self-regulation as predictors of overweight and obesity. Journal of the American Association of Nurse Practitioners

31, 502. https://doi.org/10.1097/JXX.0000000000000169

Balasekaran, G., Loh, M.K., Boey, P., Ng, Y.C., 2023. Determination, measurement, and validation of maximal aerobic speed. Sci Rep 13, 8006. https://doi.org/10.1038/s41598-023-31904-1

Bandyopadhyay, G.K., Yu, J.G., Ofrecio, J., Olefsky, J.M., 2006. Increased Malonyl-CoA Levels in Muscle From Obese and Type 2 Diabetic Subjects Lead to Decreased Fatty Acid Oxidation and Increased Lipogenesis; Thiazolidinedione Treatment Reverses These Defects. Diabetes 55, 2277–2285. https://doi.org/10.2337/db06-0062

Bang, M.L., Centner, T., Fornoff, F., Geach, A.J., Gotthardt, M., McNabb, M., Witt, C.C., Labeit, D., Gregorio, C.C., Granzier, H., Labeit, S., 2001. The complete gene sequence of titin, expression of an unusual approximately 700-kDa titin isoform, and its interaction with obscurin identify a novel Z-line to I-band linking system. Circ Res 89, 1065–1072. https://doi.org/10.1161/hh2301.100981

Bansal, M.P., Jaswal, S., 2009. Hypercholesterolemia Induced Oxidative Stress Is Reduced in Rats with Diets Enriched with Supplement from Dunaliella salina Algae.

Barclay, C.J., 2017. Energy demand and supply in human skeletal muscle. J Muscle Res Cell Motil 38, 143–155. https://doi.org/10.1007/s10974-017-9467-7

Barnes, K.R., Kilding, A.E., 2015. Running economy: measurement, norms, and determining factors. Sports Med - Open 1, 8. https://doi.org/10.1186/s40798-015-0007-y

Barter, P., Gotto, A.M., LaRosa, J.C., Maroni, J., Szarek, M., Grundy, S.M., Kastelein, J.J.P., Bittner, V., Fruchart, J.-C., 2007. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. New England Journal of Medicine 357, 1301–1310. https://doi.org/10.1056/NEJMoa064278

Bartoloni, B., Mannelli, M., Gamberi, T., Fiaschi, T., 2024. The Multiple Roles of Lactate in the Skeletal Muscle. Cells 13, 1177. https://doi.org/10.3390/cells13141177

Basaranoglu, M., Basaranoglu, G., Sabuncu, T., Sentürk, H., 2013. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. World J Gastroenterol 19, 1166–1172. https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i8.1166

Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D'Udine, B., Foley, R.A., Gluckman, P., Godfrey, K., Kirkwood, T., Lahr, M.M., McNamara, J., Metcalfe, N.B., Monaghan, P., Spencer, H.G., Sultan, S.E., 2004. Developmental plasticity and human health. Nature 430, 419–421. https://doi.org/10.1038/nature02725

Bathgate, K.E., Bagley, J.R., Jo, E., Talmadge, R.J., Tobias, I.S., Brown, L.E., Coburn, J.W., Arevalo, J.A., Segal, N.L., Galpin, A.J., 2018. Muscle health and performance in monozygotic twins with 30 years of discordant exercise habits. Eur J Appl Physiol 118, 2097–2110. https://doi.org/10.1007/s00421-018-3943-7

Becher, T., Palanisamy, S., Kramer, D.J., Eljalby, M., Marx, S.J., Wibmer, A.G., Butler, S.D., Jiang, C.S., Vaughan, R., Schöder, H., Mark, A., Cohen, P., 2021. Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health. Nat Med 27, 58–65. https://doi.org/10.1038/s41591-020-1126-7

Bell, J.A., Reed, M.A., Consitt, L.A., Martin, O.J., Haynie, K.R., Hulver, M.W., Muoio, D.M., Dohm, G.L., 2010. Lipid Partitioning, Incomplete Fatty Acid Oxidation, and Insulin Signal Transduction in Primary Human Muscle Cells: Effects of Severe Obesity, Fatty Acid Incubation, and Fatty Acid Translocase/CD36 Overexpression. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 95, 3400–3410. https://doi.org/10.1210/jc.2009-1596

Bengal, E., Aviram, S., Hayek, T., 2020. p38 MAPK in Glucose Metabolism of Skeletal Muscle: Beneficial or Harmful? Int J Mol Sci 21, 6480. https://doi.org/10.3390/ijms21186480

Bensehaila, S., Doumandji, A., Boutekrabt, L., Manafikhi, H., Peluso, I., Bensehaila, K., Kouache, A., Bensehaila, A., 2015. The nutritional quality of Spirulina platensis of Tamenrasset, Algeria. African Journal of Biotechnology 14, 1649–1654.

Bergström, J., Hermansen, L., Hultman, E., Saltin, B., 1967. Diet, Muscle Glycogen and Physical Performance. Acta Physiologica Scandinavica 71, 140–150. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1967.tb03720.x

Beulen, Y., Martínez-González, M.A., van de Rest, O., Salas-Salvadó, J., Sorlí, J.V., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Estruch, R., Santos-Lozano, J.M., Schröder, H., Alonso-Gómez, A., Serra-Majem, L., Pintó, X., Ros, E., Becerra-Tomas, N., González, J.I., Fitó, M., Martínez, J.Alfredo., Gea, A., 2018. Quality of Dietary Fat Intake and Body Weight and Obesity in a Mediterranean Population: Secondary Analyses within the PREDIMED Trial.

Nutrients 10, 2011. https://doi.org/10.3390/nu10122011

Bharati, S., Shetty, S., 2022. Mitochondria-Targeted Antioxidants and Cancer, in: Chakraborti, S., Ray, B.K., Roychoudhury, S. (Eds.), Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects. Springer Nature Singapore, Singapore, pp. 1167–1188. https://doi.org/10.1007/978-981-15-9411-3_76

Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal 5, 9–19. https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613

Björntorp, P., Sjöström, L., 1978. Carbohydrate storage in man: Speculations and some quantitative considerations. Metabolism, Insulin Insensitivity 27, 1853–1865. https://doi.org/10.1016/S0026-0495(78)80004-3

Blouin, A., Bolender, R.P., Weibel, E.R., 1977. Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma. A stereological study. Journal of Cell Biology 72, 441–455. https://doi.org/10.1083/jcb.72.2.441

Blüher, M., 2020. Metabolically Healthy Obesity. Endocr Rev 41, bnaa004. https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa004

Boden, G., 2011. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 18, 139–143. https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3283444b09

Boden, G., Jadali, F., White, J., Liang, Y., Mozzoli, M., Chen, X., Coleman, E., Smith, C., 1991. Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. J Clin Invest 88, 960–966. https://doi.org/10.1172/JCI115399

Bonnard, C., Durand, A., Peyrol, S., Chanseaume, E., Chauvin, M.-A., Morio, B., Vidal, H., Rieusset, J., 2008. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. J Clin Invest 118, 789–800. https://doi.org/10.1172/JCI32601

Bosma, M., 2016. Lipid droplet dynamics in skeletal muscle. Experimental Cell Research, The Biology of Lipid Droplets 340, 180–186. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2015.10.023

Bosquet, A., Girona, J., Guaita-Esteruelas, S., Heras, M., Saavedra-García, P., Martínez-Micaelo, N., Masana, L., Rodríguez-Calvo, R., 2018. FABP4 inhibitor BMS309403 decreases saturated-fatty-acid-induced endoplasmic reticulum stress-associated inflammation in skeletal muscle by reducing p38 MAPK activation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids 1863, 604–613. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.03.004

Boushel, R., Gnaiger, E., Schjerling, P., Skovbro, M., Kraunsøe, R., Dela, F., 2007. Patients with type 2 diabetes have normal mitochondrial function in skeletal muscle. Diabetologia 50, 790–796. https://doi.org/10.1007/s00125-007-0594-3

Braakhuis, A.J., Hopkins, W.G., 2015. Impact of Dietary Antioxidants on Sport Performance: A Review. Sports Med 45, 939–955. https://doi.org/10.1007/s40279-015-0323-x

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72, 248–254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Breault, N.M., Wu, D., Dasgupta, A., Chen, K.-H., Archer, S.L., 2023. Acquired disorders of mitochondrial metabolism and dynamics in pulmonary arterial hypertension. Front. Cell Dev. Biol. 11, 1105565. https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1105565

Brigant, L., Lowy, R., 1966. Effets des régimes gras au beurre et au saindoux sur la composition tissulaire du rat: Action du cholestérol et de la déficience en vitamines / Wirkung fettreicher Diéten bei Verwendung von Butter oder Schweineschmalz auf die Gewebszueammensetzung der Ratte Wirkung des Cholesterins und des Vitaminmangels / The Effects of a Fat Regime of Butter and Lard on Tissue Composition in the Rat: The Action of Cholesterol and Vitamin Deficiency. Nutritio et dieta 8, 31–48.

Brooks, G.A., Mercier, J., 1994. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. Journal of Applied Physiology 76, 2253–2261. https://doi.org/10.1152/jappl.1994.76.6.2253

Brooks, S.P.J., Lampi, B.J., 1996. Enzymes of carbohydrate metabolism in young and adult rats fed diets differing in fat and carbohydrate. Mol Cell Biochem 159, 55–63. https://doi.org/10.1007/BF00226063

Brown, C.D., Higgins, M., Donato, K.A., Rohde, F.C., Garrison, R., Obarzanek, E., Ernst, N.D., Horan, M., 2000. Body Mass Index and the Prevalence of Hypertension and Dyslipidemia. Obesity Research 8, 605–619. https://doi.org/10.1038/oby.2000.79

Bruinstroop, E., van der Spek, A.H., Boelen, A., 2023. Role of hepatic deiodinases in thyroid hormone homeostasis and liver metabolism, inflammation, and fibrosis. Eur Thyroid J 12, e220211. https://doi.org/10.1530/ETJ-22-0211

Burri, L., Thoresen, G.H., Berge, R.K., 2010. The Role of PPARα Activation in Liver and Muscle. PPAR Research 2010, 542359. https://doi.org/10.1155/2010/542359

Busiello, R.A., Savarese, S., Lombardi, A., 2015. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. Front. Physiol. 6. https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00036

C

Cadenas, S., 2018. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. Biochim Biophys Acta Bioenerg 1859, 940–950. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2018.05.019

Calabrese, E.J., Baldwin, L.A., 2003. Hormesis: the dose-response revolution. Annu Rev Pharmacol Toxicol 43, 175–197. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223

Calderón, J.C., Bolaños, P., Caputo, C., 2014. The excitation–contraction coupling mechanism in skeletal muscle. Biophys Rev 6, 133–160. https://doi.org/10.1007/s12551-013-0135-x

Calvo, S.E., Mootha, V.K., 2010. The Mitochondrial Proteome and Human Disease. Annu Rev Genomics Hum Genet 11, 25–44. https://doi.org/10.1146/annurev-genom-082509-141720

Campbell, I., 2006. Liver: metabolic functions. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, Gastro 7, 51–54. https://doi.org/10.1383/anes.2006.7.2.51

Campos, J., Fernandes, R., Barros, A.N., Campos, J., Fernandes, R., Barros, A.N., 2024. Phycocyanin, The Microalgae Bio-Treasure, in: Functional Food - Upgrading Natural and Synthetic Sources. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.115108

Canals-Garzón, C., Guisado-Barrilao, R., Martínez-García, D., Chirosa-Ríos, I.J., Jerez-Mayorga, D., Guisado-Requena, I.M., 2022. Effect of Antioxidant Supplementation on Markers of Oxidative Stress and Muscle Damage after Strength Exercise: A Systematic Review. Int J Environ Res Public Health 19, 1803. https://doi.org/10.3390/ijerph19031803

Cannon, D.T., Bimson, W.E., Hampson, S.A., Bowen, T.S., Murgatroyd, S.R., Marwood, S., Kemp, G.J., Rossiter, H.B., 2014. Skeletal muscle ATP turnover by 31P magnetic resonance spectroscopy during moderate and heavy bilateral knee extension. The Journal of Physiology 592, 5287–5300. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.279174

Cantó, C., Auwerx, J., 2009. PGC-1α, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. Current Opinion in Lipidology 20, 98. https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328328d0a4

Caponi, P.W., Lehnen, A.M., Pinto, G.H., Borges, J., Markoski, M., Machado, U.F., Schaan, B.D., 2013. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. Clinics 68, 1010–1017. https://doi.org/10.6061/clinics/2013(07)20

Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M.T., Lorenzini, A., Bandini, E., Angeloni, C., Hrelia, S., Malaguti, M., 2017. Effect of broccoli extract enriched diet on liver cholesterol oxidation in rats subjected to exhaustive exercise. J Steroid Biochem Mol Biol 169, 137–144. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.04.005

Carey, E.M., Dils, R., Hansen, H.J., 1970. Short communications. Chain-length specificity for termination of atty acid biosynthesis by fatty acid synthetase complexes from lactating rabbit mamary gland and rat liver. Biochem J 117, 633–635.

Carfagna, S., Napolitano, G., Barone, D., Pinto, G., Pollio, A., Venditti, P., 2015. Dietary supplementation with the microalga Galdieria sulphuraria (Rhodophyta) reduces prolonged exercise-induced oxidative stress in rat tissues. Oxid Med Cell Longev 2015, 732090. https://doi.org/10.1155/2015/732090

Caroppo, C., Pagliara, P., 2022. Microalgae: A Promising Future. Microorganisms 10, 1488. https://doi.org/10.3390/microorganisms10081488

Carr, S.S., Hooper, A.J., Sullivan, D.R., Burnett, J.R., 2019. Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. Pathology 51, 148–154. https://doi.org/10.1016/j.pathol.2018.11.006

Carter, B.W., Schucany, W.G., 2008. Brown Adipose Tissue in a Newborn. Baylor University Medical Center Proceedings 21, 328–330. https://doi.org/10.1080/08998280.2008.11928419

Castoldi, A., Naffah de Souza, C., Câmara, N.O.S., Moraes-Vieira, P.M., 2016. The Macrophage Switch in Obesity Development. Front. Immunol. 6. https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00637

Chakravarty, B., Gu, Z., Chirala, S.S., Wakil, S.J., Quiocho, F.A., 2004. Human fatty acid synthase: Structure and substrate selectivity of the thioesterase domain. Proceedings of the National Academy of Sciences 101, 15567–15572. https://doi.org/10.1073/pnas.0406901101

Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., Bourges, H., 1996. [Pharmacology and toxicology of Spirulina alga]. Rev Invest Clin 48, 389–399.

Chan, D.C., Barrett, H.P.R., Watts, G.F., 2004. Dyslipidemia in Visceral Obesity. Am J Cardiovasc Drugs 4, 227–246. https://doi.org/10.2165/00129784-200404040-00004

Chance, B., Sies, H., Boveris, A., 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Rev 59, 527–605. https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527

Chaouachi, M., Gautier ,Sandrine, Carnot ,Yoann, Bideau ,Nicolas, Guillemot ,Pierrick, Moison ,Yann, Collin ,Tom, Vincent ,Sophie, and Groussard, C., 2021. Spirulina platensis Provides a Small Advantage in Vertical Jump and Sprint Performance But Does Not Improve Elite Rugby Players' Body Composition. Journal of Dietary Supplements 18, 682–697. https://doi.org/10.1080/19390211.2020.1832639

Chaouachi, M., Vincent ,Sophie, and Groussard, C., 2024. A Review of the Health-Promoting Properties of Spirulina with a Focus on athletes' Performance and Recovery. Journal of Dietary Supplements 21, 210–241. https://doi.org/10.1080/19390211.2023.2208663

Chaurasia, B., Summers, S.A., 2015. Ceramides - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders. Trends Endocrinol Metab 26, 538–550. https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.006

Chavez, J.A., Knotts, T.A., Wang, L.-P., Li, G., Dobrowsky, R.T., Florant, G.L., Summers, S.A., 2003. A Role for Ceramide, but Not Diacylglycerol, in the Antagonism of Insulin Signal Transduction by Saturated Fatty Acids *. Journal of Biological Chemistry 278, 10297–10303. https://doi.org/10.1074/jbc.M212307200

Chavez, J.A., Summers, S.A., 2012. A Ceramide-Centric View of Insulin Resistance. Cell Metabolism 15, 585–594. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.002

Chávez-Guevara, I.A., Hernández-Torres, R.P., Trejo-Trejo, M., González-Rodríguez, E., Moreno-Brito, V., Wall-Medrano, A., Pérez-León, J.A., Ramos-Jiménez, A., 2021. Exercise Fat Oxidation Is Positively Associated with Body Fatness in Men with Obesity: Defying the Metabolic Flexibility Paradigm. International Journal of Environmental Research and Public Health 18, 6945. https://doi.org/10.3390/ijerph18136945

Chen, C., Xie, L., Zhang, M., Shama, null, Cheng, K.K.Y., Jia, W., 2024. The interplay between the muscle and liver in the regulation of glucolipid metabolism. J Mol Cell Biol 15, mjad073. https://doi.org/10.1093/jmcb/mjad073

Chiang, J.Y.L., Ferrell, J.M., 2020. Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 318, G554–G573. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00223.2019

Ciapaite, J., van den Broek, N.M., te Brinke, H., Nicolay, K., Jeneson, J.A., Houten, S.M., Prompers, J.J., 2011. Differential effects of short- and long-term high-fat diet feeding on hepatic fatty acid metabolism in rats. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids 1811, 441–451. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.005

Cipak Gasparovic, A., Zarkovic, N., Zarkovic, K., Semen, K., Kaminskyy, D., Yelisyeyeva, O., Bottari, S.P., 2017. Biomarkers of oxidative and nitro-oxidative stress: conventional and novel approaches. Br J Pharmacol 174, 1771–1783. https://doi.org/10.1111/bph.13673

Clarke, S.D., Thuillier, P., Baillie, R.A., Sha, X., 1999. Peroxisome proliferator-activated receptors: a family of lipid-activated transcription factors23. The American Journal of Clinical Nutrition 70, 566–571. https://doi.org/10.1093/ajcn/70.4.566

Čolak, E., Majkić-Singh, N., 2009. The effect of Hyperglycemia and Oxidative Stress on the Development and Progress of Vascular Complications in Type 2 Diabetes. Journal of Medical Biochemistry 28, 63–71. https://doi.org/10.2478/v10011-009-0006-y

Comhaire, F., Decleer, W., 2020. Can the biological mechanisms of ageing be corrected by food supplementation. The concept of health care over sick care. The Aging Male 23, 1146–1157. https://doi.org/10.1080/13685538.2020.1713080

Condezo-Hoyos, L., Rubio, M., Arribas, S.M., España-Caparrós, G., Rodríguez-Rodríguez, P., Mujica-Pacheco, E., González, M.C., 2013. A plasma oxidative stress global index in early stages of chronic venous insufficiency. Journal of Vascular Surgery 57, 205–213. https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.05.085

Cornwell, B., Villamor, E., Mora-Plazas, M., Marin, C., Monteiro, C.A., Baylin, A., 2018. Processed and ultra-processed foods are associated with lower-quality nutrient profiles in children from Colombia. Public Health Nutr 21, 142–147. https://doi.org/10.1017/S1368980017000891

Costill, D.L., Daniels, J., Evans, W., Fink, W., Krahenbuhl, G., Saltin, B., 1976. Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. Journal of Applied Physiology 40, 149–154. https://doi.org/10.1152/jappl.1976.40.2.149

Coué, M., Tesse, A., Falewée, J., Aguesse, A., Croyal, M., Fizanne, L., Chaigneau, J., Boursier, J., Ouguerram, K., 2019. Spirulina Liquid Extract Protects against Fibrosis Related to Non-Alcoholic Steatohepatitis and Increases Ursodeoxycholic Acid. Nutrients 11, 194. https://doi.org/10.3390/nu11010194

Cui, Y., Pan, M., Ma, J., Song, X., Cao, W., Zhang, P., 2021. Recent progress in the use of mitochondrial membrane permeability transition pore in mitochondrial dysfunction-related disease therapies. Mol Cell Biochem 476, 493–506. https://doi.org/10.1007/s11010-020-03926-0

D

Daghlas, S.A., Mohiuddin, S.S., 2024. Biochemistry, Glycogen, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Dancer, M., 2017. Étude de la régulation de la triglycéridémie chez l'homme par des variants codants de LMF1 et non codants d'APOC3 et LMF1 (phdthesis). Université de Lyon.

de Castro, U.G.M., dos Santos, R.A.S.A.S., Silva, M.E., de Lima, W.G., Campagnole-Santos, M.J., 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. https://doi.org/10.1186/1476-511X-12-136

De Morais, M.G., da Fontoura Prates, D., Moreira, J.B., Duarte, J.H., Costa, J.A.V., 2018. Phycocyanin from Microalgae: Properties, Extraction and Purification, with Some Recent Applications. Industrial Biotechnology 14, 30–37. https://doi.org/10.1089/ind.2017.0009

de Oliveira Vilaca, L., 2016. Mathematical Modeling and Numerical Simulation of Excitation-Contraction Phenomena in the Heart. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5078.6164

Delarue, J., LeFoll, C., Corporeau, C., 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, 289–299. https://doi.org/10.1051/rnd:2004033

Demizieux, L., 2005. Contrôle et régulation de l'oxydation mitochondriale des acides gras à longue chaîne. J. Soc. Biol. 199, 143–155. https://doi.org/10.1051/jbio:2005015

den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D.-J., Bakker, B.M., 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. J Lipid Res 54, 2325–2340. https://doi.org/10.1194/jlr.R036012

Deng, R., Chow, T.-J., 2010. Hypolipidemic, Antioxidant, and Antiinflammatory Activities of Microalgae Spirulina. Cardiovascular Therapeutics 28, e33–e45. https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00200.x

Devaraj, C., Nair, M.R.R., Sejian, V., 2023. Physiology of Growth, in: Das, P.K., Sejian, Veerasamy, Mukherjee, J., Banerjee, D. (Eds.), Textbook of Veterinary Physiology. Springer Nature, Singapore, pp. 677–693. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9410-4_26

Dewey, K.G., 2013. The challenge of meeting nutrient needs of infants and young children during the period of complementary feeding: an evolutionary perspective. J Nutr 143, 2050–2054. https://doi.org/10.3945/jn.113.182527

Di Donato, D.M., West, D.W.D., Churchward-Venne, T.A., Breen, L., Baker, S.K., Phillips, S.M., 2014. Influence of aerobic exercise intensity on myofibrillar and mitochondrial protein synthesis in young men during early and late postexercise recovery. Am J Physiol Endocrinol Metab 306, E1025–E1032. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00487.2013

Di Meo, S., Reed, T.T., Venditti, P., Victor, V.M., 2016. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2016, 1245049. https://doi.org/10.1155/2016/1245049

Dicken, S.J., Batterham, R.L., 2024. Ultra-processed Food and Obesity: What Is the Evidence? Curr Nutr Rep 13, 23–38. https://doi.org/10.1007/s13668-024-00517-z

Dimitrijevic-Sreckovic, V., Colak, E., Djordjevic, P., Gostiljac, D., Sreckovic, B., Popovic, S., Canovic, F., Ilic, M., Obrenovic, R., Vukcevic, V., Nikolic, D., Nisic, T., Milic, G., Pejcic, G., 2007. Prothrombogenic factors and reduced antioxidative defense in children and adolescents with pre-metabolic and metabolic syndrome 45, 1140–1144. https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.259

Dominiczak, M.H., Caslake, M.J., 2011. Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. Ann Clin Biochem 48, 498–515. https://doi.org/10.1258/acb.2011.011111

Dong, G.J., Lv, C.X., Li, K.F., 2014. The Changes of Ultrastructure and Proteome Induced by Repeated Eccentric Exercise on of Rat Skeletal Muscle. Applied Mechanics and Materials 472, 792–800. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.472.792

Drake, J.C., Wilson, R.J., Yan, Z., 2016. Molecular mechanisms for mitochondrial adaptation to exercise training in skeletal muscle. FASEB J 30, 13–22. https://doi.org/10.1096/fj.15-276337

du Preez, R., Majzoub, M.E., Thomas, T., Panchal, S.K., Brown, L., 2021. Nannochloropsis oceanica as a Microalgal Food Intervention in Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. Nutrients 13, 3991. https://doi.org/10.3390/nu13113991

Dupuis, C., Berthon, J.Y., Larue, J., Rougé, S., Filaire, M., Filaire, E., 2018. Effects of 6 weeks of betaine or C-phycocyanin supplementation associated or not with wheel running on redox status. Science & Sports 33, 47–55. https://doi.org/10.1016/j.scispo.2017.08.006

E

EFEO, 2024. Lutte contre l'obésité : La Ligue nationale Contre l'Obésité dévoile une nouvelle étude épidémiologique OFÉO | Ligue nationale Contre l'Obésité [WWW Document]. URL https://liguecontrelobesite.org/actualite/lutte-contre-lobesite-la-ligue-nationale-contre-lobesite-devoile-une-nouvelle-etude-epidemiologique-ofeo/ (accessed 8.12.25).

Egan, B., Zierath, J.R., 2013. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell Metab 17, 162–184. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012

Eggers, L.F., Schwudke, D., 2016. Liquid Extraction: Folch, in: Wenk, M.R. (Ed.), Encyclopedia of Lipidomics. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–6. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7864-1_89-1

Eglseer, D., Traxler, M., Schoufour, J.D., Weijs, P.J.M., Voortman, T., Boirie, Y., Cruz-Jentoft, A.J., Reiter, L., Bauer, S., for the SO-NUTS Consortium, 2023. Nutritional and exercise interventions in individuals with sarcopenic obesity around retirement age: a systematic review and meta-analysis. Nutrition Reviews 81, 1077–1090. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuad007

Eilam, Y., Khattib, H., Pintel, N., Avni, D., 2023. Microalgae—Sustainable Source for Alternative Proteins and Functional Ingredients Promoting Gut and Liver Health. Global Challenges 7, 2200177. https://doi.org/10.1002/gch2.202200177

Ellis, B.A., Poynten, A., Lowy, A.J., Furler, S.M., Chisholm, D.J., Kraegen, E.W., Cooney, G.J., 2000. Long-chain acyl-CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rat and human muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 279, E554–E560. https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.279.3.E554

Elton, C.W., Tapscott, E.B., Pories, W.J., Dohm, G.L., 1994. Effect of Moderate Obesity on Glucose Transport in Human Muscle. Horm Metab Res 26, 181–183. https://doi.org/10.1055/s-2007-1000807

Emig, T., Peltonen, J., 2020. Human running performance from real-world big data. Nat Commun 11, 4936. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18737-6

Era, B., Delogu, G.L., Pintus, F., Fais, A., Gatto, G., Uriarte, E., Borges, F., Kumar, A., Matos, M.J., 2020. Looking for new xanthine oxidase inhibitors: 3-Phenylcoumarins *versus* 2-phenylbenzofurans. International Journal of Biological Macromolecules 162, 774–780. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.152

Erden-İnal, M., Sunal, E., Kanbak, G., 2002. Age-related changes in the glutathione redox system. Cell Biochemistry and Function 20, 61–66. https://doi.org/10.1002/cbf.937

Essén, B., 1977. Intramuscular substrate utilization during prolonged exercise. Ann N Y Acad Sci 301, 30–44. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1977.tb38183.x

Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J.P., Druart, C., Bindels, L.B., Guiot, Y., Derrien, M., Muccioli, G.G., Delzenne, N.M., de Vos, W.M., Cani, P.D., 2013. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. Proc Natl Acad Sci U S A 110, 9066–9071. https://doi.org/10.1073/pnas.1219451110

Eze, C.N., Onyejiaka, C.K., Ihim, S.A., Ayoka, T.O., Aduba, C.C., Ndukwe, J. k., Nwaiwu, O., Onyeaka, H., 2023. Bioactive compounds by microalgae and potentials for the management of some human disease conditions. AIMS Microbiol 9, 55–74. https://doi.org/10.3934/microbiol.2023004

F

Fadaei Chafy, M.R., Bagherpour Tabalvandani, M.M., Elmieh, A., Arabzadeh, E., 2022. Determining the range of aerobic exercise on a treadmill for male Wistar rats at different ages: A pilot study. Journal of Exercise & Organ Cross Talk 2, 96–100. https://doi.org/10.22034/jeoct.2022.350369.1047

Faitg, J., Reynaud, O., Leduc-Gaudet, J.-P., Gouspillou, G., 2017. Dysfonctions mitochondriales et vieillissement musculaire - Une mise à jour. Med Sci (Paris) 33, 955–962. https://doi.org/10.1051/medsci/20173311012

Fermentalg, 2021. GRAS NOTICE FOR A PHYCOCYANIN-RICH GALDIERIA SULPHURARIA EXTRACT.

Fernandes, R., Campos, J., Serra, M., Fidalgo, J., Almeida, H., Casas, A., Toubarro, D., Barros, A.I.R.N.A., 2023. Exploring the Benefits of Phycocyanin: From Spirulina Cultivation to Its Widespread Applications. Pharmaceuticals 16, 592. https://doi.org/10.3390/ph16040592

Fernández-Rojas, B., Hernández-Juárez, J., Pedraza-Chaverri, J., 2014. Nutraceutical properties of phycocyanin. Journal of Functional Foods 11, 375–392. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011

Ferreira, J.C.B., Rolim, N.P.L., Bartholomeu, J.B., Gobatto, C.A., Kokubun, E., Brum, P.C., 2007. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. Clin Exp Pharmacol Physiol 34, 760–765. https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x

Ferreira, L.F., Laitano, O., 2016. Regulation of NADPH oxidases in skeletal muscle. Free Radical Biology and Medicine, Human Performance and Redox Signaling in Health and Disease 98, 18–28. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.05.011

Ferreira, L.F., Reid, M.B., 2008. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. J Appl Physiol (1985) 104, 853–860. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00953.2007

Ferrer, M., Buey, B., Grasa, L., Mesonero, J.E., Latorre, E., 2024. Protective role of short-chain fatty acids on intestinal oxidative stress induced by TNF-α. Cell Stress and Chaperones 29, 769–776. https://doi.org/10.1016/j.cstres.2024.11.002

Fillmore, N., Abo Alrob, O., University of Alberta, Lopaschuk, G.D., 2011. Fatty Acid beta-Oxidation. AOCS. https://doi.org/10.21748/lipidlibrary.39187

Finaud, J., Lac, G., Filaire, E., 2006. Oxidative Stress. Sports Med 36, 327–358. https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004

Finck, B.N., Kelly, D.P., 2006. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. J Clin Invest 116, 615–622. https://doi.org/10.1172/JCI27794

Fink, W.J., Costill, D.L., Pollock, M.L., 1977. Submaximal and maximal working capacity of elite distance runners. Part II. Muscle fiber composition and enzyme activities. Ann N Y Acad Sci 301, 323–327. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1977.tb38210.x

Fisher-Wellman, K., Bell, H.K., Bloomer, R.J., 2009. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. Oxid Med Cell Longev 2, 43–51. https://doi.org/10.4161/oxim.2.1.7732

Fletcher, J.R., Esau, S.P., MacIntosh, B.R., 2009. Economy of running: beyond the measurement of oxygen uptake. Journal of Applied Physiology 107, 1918–1922. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00307.2009

Flück, M., Hoppeler, H., 2003. Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. Rev Physiol Biochem Pharmacol 146, 159–216. https://doi.org/10.1007/s10254-002-0004-7

Foster, C., 1983. VO2 max and training indices as determinants of competitive running performance. Journal of Sports Sciences 1, 13–22. https://doi.org/10.1080/02640418308729657

Foster, D.W., Bloom, B., 1963. THE SYNTHESIS OF FATTY ACIDS BY RAT LIVER SLICES IN TRITIATED WATER. Journal of Biological Chemistry (U.S.) Vol: 238.

Frangioudakis, G., Garrard, J., Raddatz, K., Nadler, J.L., Mitchell, T.W., Schmitz-Peiffer, C., 2010. Saturated- and n-6 Polyunsaturated-Fat Diets Each Induce Ceramide Accumulation in Mouse Skeletal Muscle: Reversal and Improvement of Glucose Tolerance by Lipid Metabolism Inhibitors. Endocrinology 151, 4187–4196. https://doi.org/10.1210/en.2010-0250

Frayn, K.N., 2010. Fat as a fuel: emerging understanding of the adipose tissue–skeletal muscle axis. Acta Physiologica 199, 509–518. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2010.02128.x

Frey, T.G., Mannella, C.A., 2000. The internal structure of mitochondria. Trends in Biochemical Sciences 25, 319–324. https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01609-1

Friedman, J.E., Caro, JoséF., Pories, W.J., Azevedo, J.L., Dohm, G.L., 1994. Glucose metabolism in incubated human muscle: Effect of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism 43, 1047–1054. https://doi.org/10.1016/0026-0495(94)90188-0

Frontera, W.R., Ochala, J., 2015. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. Calcif Tissue Int 96, 183–195. https://doi.org/10.1007/s00223-014-9915-y

Fukao, T., Song, X.-Q., Mitchell, G.A., Yamaguchi, S., Sukegawa, K., Or, T., Kondo, N., 1997. Enzymes of Ketone Body Utilization in Human Tissues: Protein and Messenger RNA Levels of Succinyl-Coenzyme A (CoA):3-Ketoacid CoA Transferase and Mitochondrial and Cytosolic Acetoacetyl-CoA Thiolases. Pediatr Res 42, 498–502. https://doi.org/10.1203/00006450-199710000-00013

Furuhashi, M., Tuncman, G., Görgün, C.Z., Makowski, L., Atsumi, G., Vaillancourt, E., Kono, K., Babaev, V.R., Fazio, S., Linton, M.F., Sulsky, R., Robl, J.A., Parker, R.A., Hotamisligil, G.S., 2007. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. Nature 447, 959–965. https://doi.org/10.1038/nature05844

G

Gaby, A.R., 2005. Adverse Effects of Dietary Fructose 10.

Galili, O., Versari, D., Sattler, K.J., Olson, M.L., Mannheim, D., McConnell, J.P., Chade, A.R., Lerman, L.O., Lerman, A., 2007. Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. Am J Physiol Heart Circ Physiol 292, H904-911. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00628.2006

Gao, Y., Liao, G., Xiang, C., Yang, X., Cheng, X., Ou, Y., 2016. Effects of phycocyanin on INS-1 pancreatic β-cell mediated by PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway. International Journal of Biological Macromolecules 83, 185–194. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.054

Garcia-Martinez, R., Caraceni, P., Bernardi, M., Gines, P., Arroyo, V., Jalan, R., 2013. Albumin: Pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications. Hepatology 58, 1836–1846. https://doi.org/10.1002/hep.26338

Gaster, M., 2007. Metabolic flexibility is conserved in diabetic myotubes. Journal of Lipid Research 48, 207–217. https://doi.org/10.1194/jlr.M600319-JLR200

Gauze-Gnagne C, Lohoues E, M.A., Monde A, Djinhi J, Camara C, Sess E, 2015. Evaluation of the Anti-oxidant Effet of Spirulina on Marathon Runners in Cote D'ivoire. J Nutr Food Sci 05. https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000392

Gehlert, S., Weber, S., Weidmann, B., Gutsche, K., Platen, P., Graf, C., Kappes-Horn, K., Bloch, W., 2012. Cycling exercise-induced myofiber transitions in skeletal muscle depend on basal fiber type distribution. Eur J Appl Physiol 112, 2393–2402. https://doi.org/10.1007/s00421-011-2209-4

Germain, D., 2008. Ubiquitin-dependent and -independent mitochondrial protein quality controls: implications in ageing and neurodegenerative diseases. Mol Microbiol 70, 1334–1341. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06502.x

Gibala, M.J., Little, J.P., MacDonald, M.J., Hawley, J.A., 2012. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. The Journal of Physiology 590, 1077–1084. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224725

Gilbert, M., 2021. Role of skeletal muscle lipids in the pathogenesis of insulin resistance of obesity and type 2 diabetes. Journal of Diabetes Investigation 12, 1934–1941. https://doi.org/10.1111/jdi.13614

Gilbert, S.F., 2010. Developmental Biology. Sinauer Associates.

Gil-Cardoso, K., Del Bas, J.M., Caimari, A., Lama, C., Torres, S., Mantecón, L., Infante, C., 2022. TetraSOD®, a Unique Marine Microalgae Ingredient, Promotes an Antioxidant and Anti-Inflammatory Status in a Metabolic Syndrome-Induced Model in Rats. Nutrients 14, 4028. https://doi.org/10.3390/nu14194028

Gleeson, M., Bishop, N.C., Stensel, D.J., Lindley, M.R., Mastana, S.S., Nimmo, M.A., 2011. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nat Rev Immunol 11, 607–615. https://doi.org/10.1038/nri3041

Gollisch, K.S.C., Brandauer, J., Jessen, N., Toyoda, T., Nayer, A., Hirshman, M.F., Goodyear, L.J., 2009. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 297, E495–E504. https://doi.org/10.1152/ajpendo.90424.2008

Gómez Rodríguez, A., Talamonti, E., Naudi, A., Kalinovich, A.V., Pauter, A.M., Barja, G., Bengtsson, T., Jacobsson, A., Pamplona, R., Shabalina, I.G., 2022. Elovl2-Ablation Leads to Mitochondrial Membrane Fatty Acid Remodeling and Reduced Efficiency in Mouse Liver Mitochondria. Nutrients 14, 559. https://doi.org/10.3390/nu14030559

Gomez-Cabrera, M.-C., Borrás, C., Pallardó, F.V., Sastre, J., Ji, L.L., Viña, J., 2005. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. The Journal of Physiology 567, 113–120. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.080564

Gomez-Cabrera, M.-C., Domenech, E., Viña, J., 2008. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic Biol Med 44, 126–131. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001

Gomez-Cabrera, M.-C., Martínez, A., Santangelo, G., Pallardó, F.V., Sastre, J., Viña, J., 2006. Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. Br J Nutr 96 Suppl 1, S31-33. https://doi.org/10.1079/bjn20061696

Gómez-Cabrera, M.-C., Pallardó, F.V., Sastre, J., Viña, J., García-del-Moral, L., 2003. Allopurinol and markers of muscle damage among participants in the Tour de France. JAMA 289, 2503–2504. https://doi.org/10.1001/jama.289.19.2503-b

Gomez-Cabrera, M.C., Salvador-Pascual, A., Cabo, H., Ferrando, B., Viña, J., 2015. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training? Free Radic Biol Med 86, 37–46. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.006

Gómez-Zorita, S., Trepiana, J., González-Arceo, M., Aguirre, L., Milton-Laskibar, I., González, M., Eseberri, I., Fernández-Quintela, A., Portillo, M.P., 2019. Anti-Obesity Effects of Microalgae. Int J Mol Sci 21, 41. https://doi.org/10.3390/ijms21010041

González-Mohíno, F., Santos-Concejero, J., Yustres, I., González-Ravé, J.M., 2020. The Effects of Interval and Continuous Training on the Oxygen Cost of Running in Recreational Runners: A Systematic Review and Meta-analysis. Sports Med 50, 283–294. https://doi.org/10.1007/s40279-019-01201-x

Gonzalo-Encabo, P., Maldonado, G., Valadés, D., Ferragut, C., Pérez-López, A., 2021. The Role of Exercise Training on Low-Grade Systemic Inflammation in Adults with Overweight and Obesity: A Systematic Review. International Journal of Environmental Research and Public Health 18, 13258. https://doi.org/10.3390/ijerph182413258

Goodman, D.S., 1965. Cholesterol Ester Metabolism. Physiological Reviews. https://doi.org/10.1152/physrev.1965.45.4.747

Goodpaster, B.H., Theriault, R., Watkins, S.C., Kelley, D.E., 2000. Intramuscular lipid content is increased in obesity and decreased by weight loss. Metabolism 49, 467–472. https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80010-4

Goodyear, L.J., Giorgino, F., Sherman, L.A., Carey, J., Smith, R.J., Dohm, G.L., 1995. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation, and phosphatidylinositol 3-kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. J Clin Invest 95, 2195–2204. https://doi.org/10.1172/JCI117909

Goossens, G.H., 2017. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. Obes Facts 10, 207–215. https://doi.org/10.1159/000471488

Gorski, J., 1992. Muscle triglyceride metabolism during exercise. Can. J. Physiol. Pharmacol. 70, 123–131. https://doi.org/10.1139/y92-019

Gotto, A.M., Pownall, H.J., Havel, R.J., 1986. Introduction to the plasma lipoproteins. Methods Enzymol 128, 3–41. https://doi.org/10.1016/0076-6879(86)28061-1

Goutianos, G., Tzioura, A., Kyparos, A., Paschalis, V., Margaritelis, N.V., Veskoukis, A.S., Zafeiridis, A., Dipla, K., Nikolaidis, M.G., Vrabas, I.S., 2015. The rat adequately reflects human responses to exercise in blood biochemical profile: a comparative study. Physiol Rep 3, e12293. https://doi.org/10.14814/phy2.12293

Goyens, P.L., Spilker, M.E., Zock, P.L., Katan, M.B., Mensink, R.P., 2006. Conversion of α-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of α-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio1. The American Journal of Clinical Nutrition 84, 44–53. https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.44

Graham, T.E., Adamo, K.B., Shearer, J., Marchand, I., Saltin, B., 2001. Pro- and macroglycogenolysis: relationship with exercise intensity and duration. Journal of Applied Physiology 90, 873–879. https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.3.873

Gray, G.M., 1970. Carbohydrate Digestion and Absorption. Gastroenterology 58, 96–107. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(70)80098-1

Greene, N.P., Lee, D.E., Brown, J.L., Rosa, M.E., Brown, L.A., Perry, R.A., Henry, J.N., Washington, T.A., 2015. Mitochondrial quality control, promoted by PGC-1α, is dysregulated by Western diet-induced obesity and partially restored by moderate physical activity in mice. Physiological Reports 3, e12470. https://doi.org/10.14814/phy2.12470

Grover, P., Bhatnagar, A., Kumari, N., Narayan Bhatt, A., Kumar Nishad, D., Purkayastha, J., 2021. C-Phycocyanin-a novel protein from *Spirulina platensis*- *In vivo* toxicity, antioxidant and immunomodulatory studies. Saudi Journal of Biological Sciences 28, 1853–1859. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.037

Gurney, T., Brouner, J., Spendiff, O., 2022. Twenty-one days of spirulina supplementation lowers heart rate during submaximal cycling and augments power output during repeated sprints in trained cyclists. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 47, 18–26. https://doi.org/10.1139/apnm-2021-0344

Gurney, T., Spendiff, O., 2020. Spirulina supplementation improves oxygen uptake in arm cycling exercise. Eur

J Appl Physiol 120, 2657–2664. https://doi.org/10.1007/s00421-020-04487-2

Gutiérrez-Juárez, R., Pocai, A., Mulas, C., Ono, H., Bhanot, S., Monia, B.P., Rossetti, L., 2006. Critical role of stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) in the onset of diet-induced hepatic insulin resistance. J Clin Invest 116, 1686–1695. https://doi.org/10.1172/JCI26991

Gutin, I., 2018. In BMI We Trust: Reframing the Body Mass Index as a Measure of Health. Soc Theory Health 16, 256–271. https://doi.org/10.1057/s41285-017-0055-0

Gutteridge, J.M., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 41, 1819–1828.

H

Habbane, M., Montoya, J., Rhouda, T., Sbaoui, Y., Radallah, D., Emperador, S., 2021. Human Mitochondrial DNA: Particularities and Diseases. Biomedicines 9, 1364. https://doi.org/10.3390/biomedicines9101364

Hadi, H.A.R., Carr, C.S., Al Suwaidi, J., 2005. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. Vasc Health Risk Manag 1, 183–198.

Halliwell, B., Chirico, S., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr 57, 715S-724S; discussion 724S-725S. https://doi.org/10.1093/ajcn/57.5.715S

Hamanaka, R.B., Chandel, N.S., 2010. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. Trends in Biochemical Sciences 35, 505–513. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.04.002

Han, H.-S., Kang, G., Kim, J.S., Choi, B.H., Koo, S.-H., 2016. Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. Exp Mol Med 48, e218–e218. https://doi.org/10.1038/emm.2015.122

Han, M.S., Park, S.Y., Shinzawa, K., Kim, S., Chung, K.W., Lee, Ji-Hyun, Kwon, C.H., Lee, K.-W., Lee, Joon-Hyoek, Park, C.K., Chung, W.J., Hwang, J.S., Yan, J.-J., Song, D.-K., Tsujimoto, Y., Lee, M.-S., 2008. Lysophosphatidylcholine as a death effector in the lipoapoptosis of hepatocytes. J Lipid Res 49, 84–97. https://doi.org/10.1194/jlr.M700184-JLR200

Hao, S., Li, F., Li, Q., Yang, Q., Zhang, W., 2022. Phycocyanin Protects against High Glucose High Fat Diet Induced Diabetes in Mice and Participates in AKT and AMPK Signaling. Foods 11, 3183. https://doi.org/10.3390/foods11203183

Hardie, D.G., 2011. Energy sensing by the AMP-activated protein kinase and its effects on muscle metabolism. Proceedings of the Nutrition Society 70, 92–99. https://doi.org/10.1017/S0029665110003915

Hargreaves, M., Spriet, L.L., 2020. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. Nat Metab 2, 817–828. https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4

Harris, C.M., Sanders, S.A., Massey, V., 1999. Role of the flavin midpoint potential and NAD binding in determining NAD versus oxygen reactivity of xanthine oxidoreductase. J Biol Chem 274, 4561–4569. https://doi.org/10.1074/jbc.274.8.4561

Harris, R.C., Foster, C.V., Hultman, E., 1987. Acetylcarnitine formation during intense muscular contraction in humans. Journal of Applied Physiology 63, 440–442. https://doi.org/10.1152/jappl.1987.63.1.440

Harris, R.C., Söderlund, K., Hultman, E., 1992. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. Clin Sci (Lond) 83, 367–374. https://doi.org/10.1042/cs0830367

Hatting, M., Tavares, C.D.J., Sharabi, K., Rines, A.K., Puigserver, P., 2018. Insulin regulation of gluconeogenesis. Annals of the New York Academy of Sciences 1411, 21–35. https://doi.org/10.1111/nyas.13435

Hawley, J.A., 2002. Adaptations Of Skeletal Muscle To Prolonged, Intense Endurance Training. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 29, 218–222. https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03623.x

He, S., Yan, L., Zhu, R., Wei, H., Wang, J., Zheng, L., Zhang, Y., 2022. Skeletal-Muscle-Specific Overexpression of Chrono Leads to Disruption of Glucose Metabolism and Exercise Capacity. Life 12, 1233. https://doi.org/10.3390/life12081233

Henríquez-Olguin, C., Knudsen, J.R., Raun, S.H., Li, Z., Dalbram, E., Treebak, J.T., Sylow, L., Holmdahl, R., Richter, E.A., Jaimovich, E., Jensen, T.E., 2019. Cytosolic ROS production by NADPH oxidase 2 regulates muscle glucose uptake during exercise. Nat Commun 10, 4623. https://doi.org/10.1038/s41467-019-12523-9

Heo, M.-G., Choung, S.-Y., 2018. Anti-obesity effects of Spirulina maxima in high fat diet induced obese rats via the activation of AMPK pathway and SIRT1. Food Funct. 9, 4906–4915. https://doi.org/10.1039/C8FO00986D

Hernández-Lepe, M.A., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J.A., Juárez-Oropeza, M.A., Luqueño-Bocardo, O.I., Hernández-Torres, R.P., Ramos-Jiménez, A., 2019. Hypolipidemic Effect of Arthrospira (Spirulina) maxima Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program in Overweight and Obese Men: A Double-Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. Marine Drugs 17, 270. https://doi.org/10.3390/md17050270

Higgins, M.R., Izadi, A., Kaviani, M., 2020. Antioxidants and Exercise Performance: With a Focus on Vitamin E and C Supplementation. International Journal of Environmental Research and Public Health 17, 8452. https://doi.org/10.3390/ijerph17228452

Holeček, M., 2023. Roles of malate and aspartate in gluconeogenesis in various physiological and pathological states. Metabolism 145, 155614. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155614

Holland, W.L., Brozinick, J.T., Wang, L.-P., Hawkins, E.D., Sargent, K.M., Liu, Y., Narra, K., Hoehn, K.L., Knotts, T.A., Siesky, A., Nelson, D.H., Karathanasis, S.K., Fontenot, G.K., Birnbaum, M.J., Summers, S.A., 2007. Inhibition of Ceramide Synthesis Ameliorates Glucocorticoid-, Saturated-Fat-, and Obesity-Induced Insulin Resistance. Cell Metabolism 5, 167–179. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.01.002

Holloszy, J.O., Booth, F.W., 1976. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. Annu Rev Physiol 38, 273–291. https://doi.org/10.1146/annurev.ph.38.030176.001421

Holzer, N., Ziltener, J.-L., Menetrey, J., 2006. Plasticité du muscle strié squelettique: effet de l'entraînement et perspectives. Rev Med Suisse 074, 1798–1804.

Hood, D.A., Memme, J.M., Oliveira, A.N., Triolo, M., 2019. Maintenance of Skeletal Muscle Mitochondria in Health, Exercise, and Aging. Annual Review of Physiology 81, 19–41. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114310

Hooper, L., Abdelhamid, A., Moore, H.J., Douthwaite, W., Skeaff, C.M., Summerbell, C.D., 2012. Effect of reducing total fat intake on body weight: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and cohort studies. BMJ 345, e7666. https://doi.org/10.1136/bmj.e7666

Horton, T.J., Pagliassotti, M.J., Hobbs, K., Hill, J.O., 1998. Fuel metabolism in men and women during and after long-duration exercise. Journal of Applied Physiology 85, 1823–1832. https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.5.1823

Hoseini, S.M., Khosravi-Darani, K., Mozafari, M.R., 2013. Nutritional and Medical Applications of Spirulina Microalgae. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 13, 1231–1237.

Houmard, J.A., Pories, W.J., Dohm, G.L., 2012. Severe Obesity: Evidence for a Deranged Metabolic Program in Skeletal Muscle? Exercise and Sport Sciences Reviews 40, 204. https://doi.org/10.1097/JES.0b013e31825d53fc

Houten, S.M., Violante, S., Ventura, F.V., Wanders, R.J.A., 2016. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β-Oxidation and Its Genetic Disorders. Annual Review of Physiology 78, 23–44. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105045

Howald, H., Hoppeler, H., Claassen, H., Mathieu, O., Straub, R., 1985. Influences of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in humans. Pflugers Arch. 403, 369–376. https://doi.org/10.1007/BF00589248

Huang, J., Jia, Y., Fu, T., Viswakarma, N., Bai, L., Rao, M.S., Zhu, Y., Borensztajn, J., Reddy, J.K., 2012. Sustained activation of PPARα by endogenous ligands increases hepatic fatty acid oxidation and prevents obesity in ob/ob mice. FASEB J 26, 628–638. https://doi.org/10.1096/fj.11-194019

Hue, L., Taegtmeyer, H., 2009a. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. Am J Physiol Endocrinol Metab 297, E578-591. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00093.2009

Hue, L., Taegtmeyer, H., 2009b. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 297, E578–E591. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00093.2009

Hultman, E., Söderlund, K., Timmons, J.A., Cederblad, G., Greenhaff, P.L., 1996. Muscle creatine loading in men. J Appl Physiol (1985) 81, 232–237. https://doi.org/10.1152/jappl.1996.81.1.232

I

Iepsen, U.W., Plovsing, R.R., Tjelle, K., Foss, N.B., Meyhoff, C.S., Ryrsø, C.K., Berg, R.M.G., Secher, N.H., 2022. The role of lactate in sepsis and COVID-19: Perspective from contracting skeletal muscle metabolism. Exp Physiol 107, 665–673. https://doi.org/10.1113/EP089474

Ilha, J., do Espírito-Santo, C.C., de Freitas, G.R., 2018. mTOR Signaling Pathway and Protein Synthesis: From Training to Aging and Muscle Autophagy, in: Xiao, J. (Ed.), Muscle Atrophy. Springer, Singapore, pp. 139–151. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1435-3_7

Imierska, M., Zabielski, P., Roszczyc-Owsiejczuk, K., Sokołowska, E., Pogodzińska, K., Kojta, I., Błachnio-Zabielska, A., 2022. Serine Palmitoyltransferase Gene Silencing Prevents Ceramide Accumulation and Insulin Resistance in Muscles in Mice Fed a High-Fat Diet. Cells 11, 1123. https://doi.org/10.3390/cells11071123

Inagaki, K., Aki, T., Fukuda, Y., Kawamoto, S., Shigeta, S., Ono, K., Suzuki, O., 2002. Identification and Expression of a Rat Fatty Acid Elongase Involved in the Biosynthesis of C18 Fatty Acids. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 66, 613–621. https://doi.org/10.1271/bbb.66.613

Inoki, K., Zhu, T., Guan, K.-L., 2003. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. Cell 115, 577–590. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00929-2

Itani, S.I., Ruderman, N.B., Schmieder, F., Boden, G., 2002. Lipid-Induced Insulin Resistance in Human Muscle Is Associated With Changes in Diacylglycerol, Protein Kinase C, and IκB-α. Diabetes 51, 2005–2011. https://doi.org/10.2337/diabetes.51.7.2005

Itoh, M., Suganami, T., Hachiya, R., Ogawa, Y., 2011. Adipose tissue remodeling as homeostatic inflammation. Int J Inflam 2011, 720926. https://doi.org/10.4061/2011/720926

J

Jackson, M.J., Stretton, C., McArdle, A., 2020. Hydrogen peroxide as a signal for skeletal muscle adaptations to exercise: What do concentrations tell us about potential mechanisms? Redox Biology, Exercise redox biology from health to performance 35, 101484. https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101484

Jankowski, M.P., Rau, K.K., Ekmann, K.M., Anderson, C.E., Koerber, H.R., 2013. Comprehensive phenotyping of group III and IV muscle afferents in mouse. Journal of Neurophysiology 109, 2374–2381. https://doi.org/10.1152/jn.01067.2012

Jansson, E., Sjödin, B., Tesch, P., 1978. Changes in muscle fibre type distribution in man after physical training: A sign of fibre type transformation? Acta Physiologica Scandinavica 104, 235–237. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1978.tb06272.x

Janssens, S., Heemskerk, M.M., van den Berg, S.A., van Riel, N.A., Nicolay, K., Willems van Dijk, K., Prompers, J.J., 2015. Effects of low-stearate palm oil and high-stearate lard high-fat diets on rat liver lipid metabolism and glucose tolerance. Nutr Metab (Lond) 12, 57. https://doi.org/10.1186/s12986-015-0053-y

Jequier, E., 1994. Carbohydrates as a source of energy. The American Journal of Clinical Nutrition 59, 682S-685S. https://doi.org/10.1093/ajcn/59.3.682S

Jitrapakdee, S., Maurice, M.St., Rayment, I., Cleland, W.W., Wallace, J.C., Attwood, P.V., 2008. Structure, Mechanism and Regulation of Pyruvate Carboxylase. Biochem J 413, 369–387. https://doi.org/10.1042/BJ20080709

Joerin, L., Kauschka, M., Bonnländer, B., Pischel, I., Benedek, B., Butterweck, V., 2014. Ficus carica Leaf Extract Modulates the Lipid Profile of Rats Fed with a High-Fat Diet through an Increase of HDL-C. Phytotherapy Research 28, 261–267. https://doi.org/10.1002/ptr.4994

Johns, D.J., Hartmann-Boyce, J., Jebb, S.A., Aveyard, P., 2014. Diet or Exercise Interventions vs Combined Behavioral Weight Management Programs: A Systematic Review and Meta-Analysis of Direct Comparisons. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics 114, 1557–1568. https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.07.005

Jump, D.B., 2009. Mammalian fatty acid elongases. Methods Mol Biol 579, 375–389. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-322-0_19

Jung, S., Kim, K., 2014. Exercise-induced PGC-1α transcriptional factors in skeletal muscle. Integrative Medicine Research, Gathering, Connecting, and Integrating 3, 155–160. https://doi.org/10.1016/j.imr.2014.09.004

K

Kahn, S.E., Hull, R.L., Utzschneider, K.M., 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature 444, 840–846. https://doi.org/10.1038/nature05482

Kakimoto, P.A., Kowaltowski, A.J., 2016. Effects of high fat diets on rodent liver bioenergetics and oxidative imbalance. Redox Biol 8, 216–225. https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.01.009

Kalafati, M., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Theodorou, A.A., Sakellariou, G.K., Koutedakis, Y., Kouretas, D., 2010. Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans. Med Sci Sports Exerc 42, 142–151. https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181ac7a45

Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C.J., Tuma, F., 2025. Physiology, Liver, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Kanungo, S., Wells, K., Tribett, T., El-Gharbawy, A., 2018. Glycogen metabolism and glycogen storage disorders. Ann Transl Med 6, 474. https://doi.org/10.21037/atm.2018.10.59

Karkos, P.D., Leong, S.C., Karkos, C.D., Sivaji, N., Assimakopoulos, D.A., 2011. Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. Evid Based Complement Alternat Med 2011, 531053. https://doi.org/10.1093/ecam/nen058

Kasbi-Chadli, F., Coué, M., Aguesse, A., Grit, I., Souque, T., Ferchaud-Roucher, V., Ouguerram, K., 2021. Spirulina liquid extract prevents metabolic disturbances and improves liver sphingolipids profile in hamster fed a high-fat diet. Eur J Nutr 60, 4483–4494. https://doi.org/10.1007/s00394-021-02589-x

Katz, A., 2022. A century of exercise physiology: key concepts in regulation of glycogen metabolism in skeletal muscle. Eur J Appl Physiol 122, 1751–1772. https://doi.org/10.1007/s00421-022-04935-1

Kelley, D.E., 2002. Skeletal Muscle Triglycerides. Annals of the New York Academy of Sciences 967, 135–145. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04271.x

Kemp, G.J., Meyerspeer, M., Moser, E., 2007. Absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle in vivo by 31P MRS: a quantitative review. NMR in Biomedicine 20, 555–565. https://doi.org/10.1002/nbm.1192

Keung, W., Ussher, J.R., Jaswal, J.S., Raubenheimer, M., Lam, V.H.M., Wagg, C.S., Lopaschuk, G.D., 2013. Inhibition of Carnitine Palmitoyltransferase-1 Activity Alleviates Insulin Resistance in Diet-Induced Obese Mice. Diabetes 62, 711–720. https://doi.org/10.2337/db12-0259

Khatoon, H., Haris, H., Rahman, N.A., Zakaria, M.N., Begum, H., Mian, S., 2018. Growth, Proximate Composition and Pigment Production of Tetraselmis chuii Cultured with Aquaculture Wastewater. J. Ocean Univ. China 17, 641–646. https://doi.org/10.1007/s11802-018-3428-7

Kiens, B., 2006. Skeletal Muscle Lipid Metabolism in Exercise and Insulin Resistance. Physiological Reviews 86, 205–243. https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2004

Kim, H.Y., Salem, N., 1990. Separation of lipid classes by solid phase extraction. J Lipid Res 31, 2285–2289.

Kim, J.-Y., Hickner, R.C., Cortright, R.L., Dohm, G.L., Houmard, J.A., 2000. Lipid oxidation is reduced in obese human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 279, E1039–E1044. https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.279.5.E1039

Kim, Y.B., Tomohiro, T., Iwashita, S., Tokuyama, K., Suzuki, M., 1994. Effect of High-Fat Diet on Gene Expression of GLUT4 and Insulin Receptor in Soleus Muscle. Biochemical and Biophysical Research Communications 202, 519–526. https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1959

Klaus, S., Casteilla, L., Bouillaud, F., Ricquier, D., 1991. The uncoupling protein ucp: A membraneous

mitochondrial ion carrier exclusively expressed in brown adipose tissue. International Journal of Biochemistry 23, 791–801. https://doi.org/10.1016/0020-711X(91)90062-R

Klionsky, D.J., Cuervo, A.M., Seglen, P.O., 2007. Methods for monitoring autophagy from yeast to human. Autophagy 3, 181–206. https://doi.org/10.4161/auto.3678

Koch, C.E., Lowe, C., Pretz, D., Steger, J., Williams, L.M., Tups, A., 2014. High-Fat Diet Induces Leptin Resistance in Leptin-Deficient Mice. Journal of Neuroendocrinology 26, 58–67. https://doi.org/10.1111/jne.12131

Koenen, M., Hill, M.A., Cohen, P., Sowers, J.R., 2021. Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction. Circulation Research 128, 951–968. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318093

Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Bäckhed, F., 2016. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. Cell 165, 1332–1345. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041

Koite, N.L.N., Sanogo, N.I., Lépine, O., Bard, J.-M., Ouguerram, K., 2022. Antioxidant Efficacy of a Spirulina Liquid Extract on Oxidative Stress Status and Metabolic Disturbances in Subjects with Metabolic Syndrome. Marine Drugs 20, 441. https://doi.org/10.3390/md20070441

Komiya, Y., Sawano, S., Mashima, D., Ichitsubo, R., Nakamura, M., Tatsumi, R., Ikeuchi, Y., Mizunoya, W., 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. https://doi.org/10.1007/s10974-017-9468-6

Korkmaz, K.S., Butuner, B.D., Roggenbuck, D., 2018. Detection of 8-OHdG as a diagnostic biomarker. Journal of Laboratory and Precision Medicine 3. https://doi.org/10.21037/jlpm.2018.11.01

Kotronen, A., Seppänen-Laakso, T., Westerbacka, J., Kiviluoto, T., Arola, J., Ruskeepää, A.-L., Oresic, M., Yki-Järvinen, H., 2009. Hepatic stearoyl-CoA desaturase (SCD)-1 activity and diacylglycerol but not ceramide concentrations are increased in the nonalcoholic human fatty liver. Diabetes 58, 203–208. https://doi.org/10.2337/db08-1074

Krebs, H.A., Johnson, W.A., 1937. Metabolism of ketonic acids in animal tissues. Biochem J 31, 645–660. https://doi.org/10.1042/bj0310645

Kryściak, K., Majerczak, J., Kryściak, J., Łochyński, D., Kaczmarek, D., Drzymała-Celichowska, H., Krutki, P., Gawedzka, A., Guzik, M., Korostynski, M., Szkutnik, Z., Pyza, E., Jarmuszkiewicz, W., Zoladz, J.A., Celichowski, J., 2018. Adaptation of motor unit contractile properties in rat medial gastrocnemius to treadmill endurance training: Relationship to muscle mitochondrial biogenesis. PLOS ONE 13, e0195704. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195704

Kumar, M., Kaushik, D., Kaur, J., Proestos, C., Oz, F., Oz, E., Gupta, P., Kundu, P., Kaur, A., Anisha, A., Ritika, R., 2022. A Critical Review on Obesity: Herbal Approach, Bioactive Compounds, and Their Mechanism. Applied Sciences 12, 8342. https://doi.org/10.3390/app12168342

Kumar, R., Coggan, A.R., Ferreira, L.F., 2022. Nitric oxide and skeletal muscle contractile function. Nitric Oxide 122–123, 54–61. https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.04.001

Kwon, S., Janz, K.F., Letuchy, E.M., Burns, T.L., Levy, S.M., 2015. Active lifestyle in childhood and adolescence prevents obesity development in young adulthood. Obesity (Silver Spring) 23, 2462–2469. https://doi.org/10.1002/oby.21262

L

Laplante, M., Sabatini, D.M., 2009. mTOR signaling at a glance. J Cell Sci 122, 3589–3594. https://doi.org/10.1242/jcs.051011

Lauritzen, H.P.M.M., 2013. Insulin and Contraction-induced GLUT4 Traffic in Muscle: Insights from a Novel Imaging Approach. Exerc Sport Sci Rev 41, 77–86. https://doi.org/10.1097/JES.0b013e318275574c

Lawrence, T.L.J., 2017. Growth in Animals: Studies in the Agricultural and Food Sciences. Elsevier.

Lawson, J.W., Veech, R.L., 1979. Effects of pH and free Mg2+ on the Keq of the creatine kinase reaction and other phosphate hydrolyses and phosphate transfer reactions. Journal of Biological Chemistry 254, 6528–6537. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)50400-2

Le Roy, T., Llopis, M., Lepage, P., Bruneau, A., Rabot, S., Bevilacqua, C., Martin, P., Philippe, C., Walker, F., Bado, A., Perlemuter, G., Cassard-Doulcier, A.-M., Gérard, P., 2013. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. Gut 62, 1787–1794. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303816

Lee, S.-H., Lee, J.E., Kim, Y., Lee, S.-Y., 2016. The Production of High Purity Phycocyanin by Spirulina platensis Using Light-Emitting Diodes Based Two-Stage Cultivation. Appl Biochem Biotechnol 178, 382–395. https://doi.org/10.1007/s12010-015-1879-5

Leeuwenburgh, C., J, H., S, L., M, Griffiths, M, Gore, Ll, J., 1997. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. The American journal of physiology 272. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.272.1.R363

Lei, C., Wang, J., Li, X., Mao, Y.-Y., Yan, J.-Q., 2023. Changes of insulin receptors in high fat and high glucose diet mice with insulin resistance. Adipocyte 12, 2264444. https://doi.org/10.1080/21623945.2023.2264444

Leonard, A.E., Pereira, S.L., Sprecher, H., Huang, Y.-S., 2004. Elongation of long-chain fatty acids. Prog Lipid Res 43, 36–54. https://doi.org/10.1016/s0163-7827(03)00040-7

Leung, P., Lee, H.-H., Kung, Y.-C., Tsai, M.-F., Chou, T.-C., 2013. Therapeutic Effect of C-Phycocyanin Extracted from Blue Green Algae in a Rat Model of Acute Lung Injury Induced by Lipopolysaccharide. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013, 916590. https://doi.org/10.1155/2013/916590

Leverve, X., 1999. Rôle du foie dans le métabolisme des nutriments en nutrition artificielle. Nutrition Clinique et Métabolisme 13, 225–231. https://doi.org/10.1016/S0985-0562(99)80050-8

Levine, B., Klionsky, D.J., 2004. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. Dev Cell 6, 463–477. https://doi.org/10.1016/s1534-5807(04)00099-1

Li, J., Stillman, J.S., Clore, J.N., Blackard, W.G., 1993. Skeletal muscle lipids and glycogen mask substrate competition (Randle cycle). Metabolism 42, 451–456. https://doi.org/10.1016/0026-0495(93)90102-T

Li, J., Zhang, S., Li, C., Zhang, X., Shan, Y., Zhang, Z., Bo, H., Zhang, Y., 2024. Endurance exercise-induced histone methylation modification involved in skeletal muscle fiber type transition and mitochondrial biogenesis. Sci Rep 14, 21154. https://doi.org/10.1038/s41598-024-72088-6

Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z.-J., Lao, L., Wong, C.-W., Feng, Y., 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. Int J Mol Sci 16, 26087–26124. https://doi.org/10.3390/ijms161125942

Li, X., Li, Z., Zhao, M., Nie, Y., Liu, P., Zhu, Y., Zhang, X., 2019. Skeletal Muscle Lipid Droplets and the Athlete's Paradox. Cells 8, 249. https://doi.org/10.3390/cells8030249

Li, Y., Li, S., Wu, H., 2022. Ubiquitination-Proteasome System (UPS) and Autophagy Two Main Protein Degradation Machineries in Response to Cell Stress. Cells 11, 851. https://doi.org/10.3390/cells11050851

Li, X., Parks, E.J., McLaren, D.G., Lambert, J.E., Cardasis, H.L., Chappell, D.L., McAvoy, T., Salituro, G., Alon, A., Dennie, J., Chakravarthy, M., Shankar, S.S., Laterza, O.F., Lassman, M.E., 2016. An LC-MRM method for measuring intestinal triglyceride assembly using an oral stable isotope-labeled fat challenge. Bioanalysis 8, 1265–1277. https://doi.org/10.4155/bio-2016-0024

Lian, D., Chen, M.-M., Wu, H., Deng, S., Hu, X., 2022. The Role of Oxidative Stress in Skeletal Muscle Myogenesis and Muscle Disease. Antioxidants 11, 755. https://doi.org/10.3390/antiox11040755

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., Spiegelman, B.M., 2002. Transcriptional co-activator PGC-1α drives the formation of slow-twitch muscle fibres. Nature 418, 797–801. https://doi.org/10.1038/nature00904

Lin, Y., Qiao, J., Sun, Y., Dong, H., 2025. The profound review of Fenton process: What's the next step? Journal of Environmental Sciences 147, 114–130. https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.10.005

Lipke, K., Kubis-Kubiak, A., Piwowar, A., 2022. Molecular Mechanism of Lipotoxicity as an Interesting Aspect in the Development of Pathological States—Current View of Knowledge. Cells 11, 844.

https://doi.org/10.3390/cells11050844

Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B., Bugeon, J., 2016. How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. ScientificWorldJournal 2016, 3182746. https://doi.org/10.1155/2016/3182746

Liu, J., Zhao, H., Yang, Linlin, Wang, X., Yang, Linquan, Xing, Y., Lv, X., Ma, H., Song, G., 2022. The role of CD36-Fabp4-PPARγ in skeletal muscle involves insulin resistance in intrauterine growth retardation mice with catch-up growth. BMC Endocr Disord 22, 10. https://doi.org/10.1186/s12902-021-00921-4

Liu, L., Shi, X., Choi, C.S., Shulman, G.I., Klaus, K., Nair, K.S., Schwartz, G.J., Zhang, Y., Goldberg, I.J., Yu, Y.-H., 2009. Paradoxical Coupling of Triglyceride Synthesis and Fatty Acid Oxidation in Skeletal Muscle Overexpressing DGAT1. Diabetes 58, 2516–2524. https://doi.org/10.2337/db08-1096

Liu, Q., Li, W., Qin, S., 2020. Therapeutic effect of phycocyanin on acute liver oxidative damage caused by X-ray. Biomedicine & Pharmacotherapy 130, 110553. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110553

Liu, R., Qin, S., Li, W., 2022. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism. Biomedicine & Pharmacotherapy 153, 113362. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113362

Liu, Y., Yin, W., 2025. CD36 in liver diseases. Hepatology Communications 9, e0623. https://doi.org/10.1097/HC9.0000000000000623

Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 25, 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Long, Q., Huang, L., Huang, K., Yang, Q., 2019. Assessing Mitochondrial Bioenergetics in Isolated Mitochondria from Mouse Heart Tissues Using Oroboros 2k-Oxygraph. Methods Mol Biol 1966, 237–246. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9195-2_19

Lu, H.-K., Hsieh, C.-C., Hsu, J.-J., Yang, Y.-K., Chou, H.-N., 2006. Preventive effects of Spirulina platensis on skeletal muscle damage under exercise-induced oxidative stress. Eur J Appl Physiol 98, 220–226. https://doi.org/10.1007/s00421-006-0263-0

Lu, L., Li, W., Sun, C., Kang, S., Li, J., Luo, X., Su, Q., Liu, B., Qin, S., 2020. Phycocyanin Ameliorates Radiation-Induced Acute Intestinal Toxicity by Regulating the Effect of the Gut Microbiota on the TLR4/Myd88/NF-κB Pathway. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 44, 1308–1317. https://doi.org/10.1002/jpen.1744

Lu, S.C., 2013. Glutathione synthesis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, Cellular functions of glutathione 1830, 3143–3153. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008

Lu, T.-W., Chang, C.-F., 2012. Biomechanics of human movement and its clinical applications. Kaohsiung J Med Sci 28, S13-25. https://doi.org/10.1016/j.kjms.2011.08.004

Luden, N., Hayes, E., Minchev, K., Louis, E., Raue, U., Conley, T., Trappe, S., 2012. Skeletal muscle plasticity with marathon training in novice runners. Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports 22, 662–670. https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2011.01305.x

Lund, J., Rustan, A.C., Løvsletten, N.G., Mudry, J.M., Langleite, T.M., Feng, Y.Z., Stensrud, C., Brubak, M.G., Drevon, C.A., Birkeland, K.I., Kolnes, K.J., Johansen, E.I., Tangen, D.S., Stadheim, H.K., Gulseth, H.L., Krook, A., Kase, E.T., Jensen, J., Thoresen, G.H., 2017. Exercise in vivo marks human myotubes in vitro: Training-induced increase in lipid metabolism. PLOS ONE 12, e0175441. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175441

Lupatini, A.L., Colla, L.M., Canan, C., Colla, E., 2017. Potential application of microalga Spirulina platensis as a protein source. Journal of the Science of Food and Agriculture 97, 724–732. https://doi.org/10.1002/jsfa.7987

M

Ma, P., Huang, R., Jiang, J., Ding, Y., Li, T., Ou, Y., 2020. Potential use of C-phycocyanin in non-alcoholic fatty liver disease. Biochem Biophys Res Commun 526, 906–912. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.001

Mächler, P., Wyss, M.T., Elsayed, M., Stobart, J., Gutierrez, R., von Faber-Castell, A., Kaelin, V., Zuend, M., San Martín, A., Romero-Gómez, I., Baeza-Lehnert, F., Lengacher, S., Schneider, B.L., Aebischer, P.,

Magistretti, P.J., Barros, L.F., Weber, B., 2016. In Vivo Evidence for a Lactate Gradient from Astrocytes to Neurons. Cell Metabolism 23, 94–102. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.010

Mahley, R.W., Innerarity, T.L., Rall, S.C., Weisgraber, K.H., 1984. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. J Lipid Res 25, 1277–1294.

Mann, S., Beedie, C., Jimenez, A., 2014. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile: Review, Synthesis and Recommendations. Sports Med 44, 211–221. https://doi.org/10.1007/s40279-013-0110-5

Mantzaris, M.D., Tsianos, E.V., Galaris, D., 2011. Interruption of triacylglycerol synthesis in the endoplasmic reticulum is the initiating event for saturated fatty acid-induced lipotoxicity in liver cells. The FEBS Journal 278, 519–530. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07972.x

Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., Calhau, C., 2016. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. Adipocyte 5, 11–21. https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723

Martelli, F., Cirlini, M., Lazzi, C., Neviani, E., Bernini, V., 2021. Solid-State Fermentation of Arthrospira platensis to Implement New Food Products: Evaluation of Stabilization Treatments and Bacterial Growth on the Volatile Fraction. Foods 10, 67. https://doi.org/10.3390/foods10010067

Martínez-Augustin, O., Aguilera, C.M., Gil-Campos, M., Sánchez De Medina, F., Gil, A., 2012. Bioactive Anti-Obesity Food Components. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 82, 148–156. https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000105

Martín-Fernández, M., Arroyo, V., Carnicero, C., Sigüenza, R., Busta, R., Mora, N., Antolín, B., Tamayo, E., Aspichueta, P., Carnicero-Frutos, I., Gonzalo-Benito, H., Aller, R., 2022. Role of Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in the Pathophysiology of NAFLD. Antioxidants 11, 2217. https://doi.org/10.3390/antiox11112217

Massao Hirabara, S., de Oliveira Carvalho, C.R., Mendonça, J.R., Piltcher Haber, E., Fernandes, L.C., Curi, R., 2003. Palmitate acutely raises glycogen synthesis in rat soleus muscle by a mechanism that requires its metabolization (Randle cycle). FEBS Letters 541, 109–114. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00316-8

Matin, M., Koszarska, M., Atanasov, A.G., Król-Szmajda, K., Jóźwik, A., Stelmasiak, A., Hejna, M., 2024. Bioactive Potential of Algae and Algae-Derived Compounds: Focus on Anti-Inflammatory, Antimicrobial, and Antioxidant Effects. Molecules 29, 4695. https://doi.org/10.3390/molecules29194695

Matsuzaka, T., Shimano, H., Yahagi, N., Amemiya-Kudo, M., Yoshikawa, T., Hasty, A.H., Tamura, Y., Osuga, J., Okazaki, H., Iizuka, Y., Takahashi, A., Sone, H., Gotoda, T., Ishibashi, S., Yamada, N., 2002. Dual regulation of mouse Δ5- and Δ6-desaturase gene expression by SREBP-1 and PPARα. Journal of Lipid Research 43, 107–114. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)30193-0

Maunder, E., Rothschild, J.A., Fritzen, A.M., Jordy, A.B., Kiens, B., Brick, M.J., Leigh, W.B., Chang, W.-L., Kilding, A.E., 2023. Skeletal muscle proteins involved in fatty acid transport influence fatty acid oxidation rates observed during exercise. Pflugers Arch - Eur J Physiol 475, 1061–1072. https://doi.org/10.1007/s00424-023-02843-7

Mayer, C., 2019. Effets préventifs des micro-algues marines et de leurs molécules bioactives sur le syndrome métabolique et l'obésité (These de doctorat). Le Mans.

Mayer, C., Côme, M., Ulmann, L., Chini Zittelli, G., Faraloni, C., Nazih, H., Ouguerram, K., Chénais, B., Mimouni, V., 2019. Preventive Effects of the Marine Microalga Phaeodactylum tricornutum, Used as a Food Supplement, on Risk Factors Associated with Metabolic Syndrome in Wistar Rats. Nutrients 11, 1069. https://doi.org/10.3390/nu11051069

Mayer, C., Côme, M., Ulmann, L., Martin, I., Zittelli, G.C., Faraloni, C., Ouguerram, K., Chénais, B., Mimouni, V., 2022. The Potential of the Marine Microalga Diacronema lutheri in the Prevention of Obesity and Metabolic Syndrome in High-Fat-Fed Wistar Rats. Molecules 27, 4246. https://doi.org/10.3390/molecules27134246

Mayer, C., Richard, L., Côme, M., Ulmann, L., Nazih, H., Chénais, B., Ouguerram, K., Mimouni, V., 2021. The Marine Microalga, Tisochrysis lutea, Protects against Metabolic Disorders Associated with Metabolic Syndrome and Obesity. Nutrients 13, 430. https://doi.org/10.3390/nu13020430

Mazokopakis, E.E., Papadomanolaki, M.G., Fousteris, A.A., Kotsiris, D.A., Lampadakis, I.M., Ganotakis, E.S.,

2014. The hepatoprotective and hypolipidemic effects of Spirulina (Arthrospira platensis) supplementation in a Cretan population with non-alcoholic fatty liver disease: a prospective pilot study. Ann Gastroenterol 27, 387–394.

Mazzeo, R.S., Brooks, G.A., Horvath, S.M., 1984. Effects of age on metabolic responses to endurance training in rats. Journal of Applied Physiology. https://doi.org/10.1152/jappl.1984.57.5.1369

McCommis, K.S., Finck, B.N., 2015. Mitochondrial pyruvate transport: a historical perspective and future research directions. Biochemical Journal 466, 443–454. https://doi.org/10.1042/BJ20141171

McGee, S.L., Hargreaves, M., 2024. Exercise performance and health: Role of GLUT4. Free Radical Biology and Medicine 224, 479–483. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2024.09.004

McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M., Hayes, J.D., 2003. Keap1-dependent Proteasomal Degradation of Transcription Factor Nrf2 Contributes to the Negative Regulation of Antioxidant Response Element-driven Gene Expression *. Journal of Biological Chemistry 278, 21592–21600. https://doi.org/10.1074/jbc.M300931200

Mehlem, A., Hagberg, C.E., Muhl, L., Eriksson, U., Falkevall, A., 2013. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. Nat Protoc 8, 1149–1154. https://doi.org/10.1038/nprot.2013.055

Meldrum, D.R., Morris, M.A., Gambone, J.C., 2017. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will? Fertility and Sterility 107, 833–839. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.02.104

Melkonian, E.A., Schury, M.P., 2022. Biochemistry, Anaerobic Glycolysis, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Mendes, B.F., Costa-Pereira, L.V., de Andrade, J.A., Diniz Magalhães, C.O., de Pereira, R.R.S., Esteves, E.A., Cassilhas, R.C., Andrade, E.F., Gripp, F., de Magalhães, F.C., Honorato Sampaio, K., Amorim, F.T., Dias-Peixoto, M.F., 2022. Superior cardiometabolic and cellular adaptive responses to multiple versus single daily sessions of high-intensity interval training in Wistar rats. Sci Rep 12, 21187. https://doi.org/10.1038/s41598-022-24906-y

Meo, S.D., Iossa, S., Venditti, P., 2017. Improvement of obesity-linked skeletal muscle insulin resistance by strength and endurance training. Journal of Endocrinology 234, R159–R181. https://doi.org/10.1530/JOE-17-0186

Merry, T.L., Ristow, M., 2016. Do antioxidant supplements interfere with skeletal muscle adaptation to exercise training? J Physiol 594, 5135–5147. https://doi.org/10.1113/JP270654

Micha, R., Peñalvo, J.L., Cudhea, F., Imamura, F., Rehm, C.D., Mozaffarian, D., 2017. Association Between Dietary Factors and Mortality From Heart Disease, Stroke, and Type 2 Diabetes in the United States. JAMA 317, 912–924. https://doi.org/10.1001/jama.2017.0947

Michalopoulos, G.K., Bhushan, B., 2021. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 18, 40–55. https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4

Miller, R.G., Boska, M.D., Moussavi, R.S., Carson, P.J., Weiner, M.W., 1988. 31P nuclear magnetic resonance studies of high energy phosphates and pH in human muscle fatigue. Comparison of aerobic and anaerobic exercise. J Clin Invest 81, 1190–1196. https://doi.org/10.1172/JCI113434

Millward, D.J., Garlick, P.J., James, W.P., Nnanyelugo, D.O., Ryatt, J.S., 1973. Relationship between protein synthesis and RNA content in skeletal muscle. Nature 241, 204–205. https://doi.org/10.1038/241204a0

Miyazaki, M., McCarthy, J.J., Fedele, M.J., Esser, K.A., 2011. Early activation of mTORC1 signalling in response to mechanical overload is independent of phosphoinositide 3-kinase/Akt signalling. J Physiol 589, 1831–1846. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.205658

Moncada, S., Higgs, A., 1993. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. New England Journal of Medicine 329, 2002–2012. https://doi.org/10.1056/NEJM199312303292706

Montezano, A.C., Touyz, R.M., 2012. Reactive oxygen species and endothelial function--role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. Basic Clin Pharmacol Toxicol 110, 87–94. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00785.x

Mooli, R.G.R., Ramakrishnan, S.K., 2022. Emerging Role of Hepatic Ketogenesis in Fatty Liver Disease. Front.

Physiol. 13. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.946474

Moon, Y.-A., Shah, N.A., Mohapatra, S., Warrington, J.A., Horton, J.D., 2001. Identification of a Mammalian Long Chain Fatty Acyl Elongase Regulated by Sterol Regulatory Element-binding Proteins *. Journal of Biological Chemistry 276, 45358–45366. https://doi.org/10.1074/jbc.M108413200

Morino, K., Petersen, K.F., Shulman, G.I., 2006. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Humans and Their Potential Links With Mitochondrial Dysfunction. Diabetes 55, S9–S15. https://doi.org/10.2337/db06-S002

Morio, B., Panthu, B., Bassot, A., Rieusset, J., 2021. Role of mitochondria in liver metabolic health and diseases. Cell Calcium 94, 102336. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102336

Moro, C., Bajpeyi, S., Smith, S.R., 2008. Determinants of intramyocellular triglyceride turnover: implications for insulin sensitivity. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 294, E203–E213. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00624.2007

Mota, M., Banini, B.A., Cazanave, S.C., Sanyal, A.J., 2016. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. Metabolism, Nonalcoholic Fatty Liver Disease: From Epidemiology to Emerging Treatment(s) 65, 1049–1061. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.02.014

Motojima, K., Passilly, P., Peters, J.M., Gonzalez, F.J., Latruffe, N., 1998. Expression of putative fatty acid transporter genes are regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma activators in a tissue- and inducer-specific manner. J Biol Chem 273, 16710–16714. https://doi.org/10.1074/jbc.273.27.16710

Mozaffarian, D., 2017. Foods, obesity, and diabetes-are all calories created equal? Nutr Rev 75, 19–31. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw024

Mthembu, S.X.H., Mazibuko-Mbeje, S.E., Ziqubu, K., Muvhulawa, N., Marcheggiani, F., Cirilli, I., Nkambule, B.B., Muller, C.J.F., Basson, A.K., Tiano, L., Dludla, P.V., 2024. Potential regulatory role of PGC-1α within the skeletal muscle during metabolic adaptations in response to high-fat diet feeding in animal models. Pflugers Arch 476, 283–293. https://doi.org/10.1007/s00424-023-02890-0

Murphy, M.P., 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. Biochemical Journal 417, 1–13. https://doi.org/10.1042/BJ20081386

Must, A., Tybor, D.J., 2005. Physical activity and sedentary behavior: a review of longitudinal studies of weight and adiposity in youth. Int J Obes (Lond) 29 Suppl 2, S84-96. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803064

N

Nakajima, S., Koh, V., Kua, L.-F., So, J., Davide, L., Lim, K.S., Petersen, S.H., Yong, W.-P., Shabbir, A., Kono, K., 2016. Accumulation of CD11c+CD163+ Adipose Tissue Macrophages through Upregulation of Intracellular 11β-HSD1 in Human Obesity. The Journal of Immunology 197, 3735–3745. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600895

Nakatani, A., Han, D.-H., Hansen, P.A., Nolte, L.A., Host, H.H., Hickner, R.C., Holloszy, J.O., 1997. Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats. Journal of Applied Physiology 82, 711–715. https://doi.org/10.1152/jappl.1997.82.2.711

Neuschwander-Tetri, B.A., 2010. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. Hepatology 52, 774–788. https://doi.org/10.1002/hep.23719

Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Bloc'h, J.L., Siliart, B., Dumon, H., 2008. Liver lipid metabolism. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 92, 272–283. https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00752.x

Nikroo, H., Hosseini, S.R.A., Fathi, M., Sardar, M.A., Khazaei, M., 2020. The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR-α, SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-induced NAFLD male rats. Physiology & Behavior 227, 113149. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113149

Nolfi-Donegan, D., Braganza, A., Shiva, S., 2020. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. Redox Biol 37, 101674. https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674

O

Ogura, Y., Kakehashi, C., Yoshihara, T., Kurosaka, M., Kakigi, R., Higashida, K., Fujiwara, S.-E., Akema, T., Funabashi, T., 2020. Ketogenic diet feeding improves aerobic metabolism property in extensor digitorum longus muscle of sedentary male rats. PLOS ONE 15, e0241382. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241382

Oh, S., So, R., Shida, T., Matsuo, T., Kim, B., Akiyama, K., Isobe, T., Okamoto, Y., Tanaka, K., Shoda, J., 2017. High-Intensity Aerobic Exercise Improves Both Hepatic Fat Content and Stiffness in Sedentary Obese Men with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Sci Rep 7, 43029. https://doi.org/10.1038/srep43029

O'Keefe, S.F., 2002. Nomenclature and Classification of Lipids, in: Food Lipids. CRC Press.

Oliver, E., McGillicuddy, F., Phillips, C., Toomey, S., Roche, H.M., 2010. The role of inflammation and macrophage accumulation in the development of obesity-induced type 2 diabetes mellitus and the possible therapeutic effects of long-chain n-3 PUFA. Proc Nutr Soc 69, 232–243. https://doi.org/10.1017/S0029665110000042

Oppert, J.-M., Bellicha, A., van Baak, M.A., Battista, F., Beaulieu, K., Blundell, J.E., Carraça, E.V., Encantado, J., Ermolao, A., Pramono, A., Farpour-Lambert, N., Woodward, E., Dicker, D., Busetto, L., 2021. Exercise training in the management of overweight and obesity in adults: Synthesis of the evidence and recommendations from the European Association for the Study of Obesity Physical Activity Working Group. Obesity Reviews 22, e13273. https://doi.org/10.1111/obr.13273

Ost, M., Keipert, S., Klaus, S., 2017. Targeted mitochondrial uncoupling beyond UCP1 – The fine line between death and metabolic health. Biochimie, UCP1: 40 years and beyond 134, 77–85. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.11.013

Ostman, C., Smart, N.A., Morcos, D., Duller, A., Ridley, W., Jewiss, D., 2017. The effect of exercise training on clinical outcomes in patients with the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. Cardiovasc Diabetol 16, 110. https://doi.org/10.1186/s12933-017-0590-y

Ou, Y., Lin, L., Yang, X., Pan, Q., Cheng, X., 2013. Antidiabetic potential of phycocyanin: Effects on KKAy mice. Pharmaceutical Biology 51, 539–544. https://doi.org/10.3109/13880209.2012.747545

P

Pal, J., Shukla, B., Maurya, A., Verma, H., Gayatri, Pandey, Amitha, 2018. A review on role of fish in human nutrition with special emphasis to essential fatty acid. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 6, 427–430.

Pallarés, J.G., Cerezuela-Espejo, V., Morán-Navarro, R., Martínez-Cava, A., Conesa, E., Courel-Ibáñez, J., 2019. A New Short Track Test to Estimate the VO2max and Maximal Aerobic Speed in Well-Trained Runners. The Journal of Strength & Conditioning Research 33, 1216. https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003121

Park, J.H., Moon, J.H., Kim, H.J., Kong, M.H., Oh, Y.H., 2020. Sedentary Lifestyle: Overview of Updated Evidence of Potential Health Risks. Korean J Fam Med 41, 365–373. https://doi.org/10.4082/kjfm.20.0165

Pataky, M.W., Wang, H., Yu, C.S., Arias, E.B., Ploutz-Snyder, R.J., Zheng, X., Cartee, G.D., 2017. High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance in Single Skeletal Muscle Fibers is Fiber Type Selective. Sci Rep 7, 13642. https://doi.org/10.1038/s41598-017-12682-z

Pateiro, M., Domínguez, R., Munekata, P.E.S., Barba, F.J., Lorenzo, J.M., 2019. 4 - Lipids and fatty acids, in: Barba, F.J., Saraiva, J.M.A., Cravotto, G., Lorenzo, J.M. (Eds.), Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 107–137. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814174-8.00004-4

Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., Stanton, C., 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. J Nutr Metab 2012, 539426. https://doi.org/10.1155/2012/539426

Pearson, N., Braithwaite, R.E., Biddle, S.J.H., van Sluijs, E.M.F., Atkin, A.J., 2014. Associations between sedentary behaviour and physical activity in children and adolescents: a meta-analysis. Obes Rev 15, 666–675. https://doi.org/10.1111/obr.12188

Peeling, P., Castell, L.M., Derave, W., Hon, O. de, Burke, L.M., 2019. Sports Foods and Dietary Supplements for Optimal Function and Performance Enhancement in Track-and-Field Athletes. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism 29, 198–209. https://doi.org/10.1123/ijsnem.2018-0271

Peoples, J.N., Saraf, A., Ghazal, N., Pham, T.T., Kwong, J.Q., 2019. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. Exp Mol Med 51, 1–13. https://doi.org/10.1038/s12276-019-0355-7

Perry, C.G.R., Heigenhauser, G.J.F., Bonen, A., Spriet, L.L., 2008. High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 33, 1112–1123. https://doi.org/10.1139/H08-097

Pesta, D., 2024. Mitochondrial density in skeletal and cardiac muscle. Mitochondrion 75, 101838. https://doi.org/10.1016/j.mito.2023.101838

Petersen, R., Nørremark, M.F., Færgeman, N., 2025. Randle Cycle in Practice: a student exercise to teach glucose- and fatty acid metabolism in fasted, fed and exercised states. Advances in Physiology Education. https://doi.org/10.1152/advan.00096.2024

Peternelj, T.-T., Coombes, J.S., 2011. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? Sports Med 41, 1043–1069. https://doi.org/10.2165/11594400-000000000-00000

Phillips, C.M., Dillon, C., Harrington, J.M., McCarthy, V.J.C., Kearney, P.M., Fitzgerald, A.P., Perry, I.J., 2013. Defining Metabolically Healthy Obesity: Role of Dietary and Lifestyle Factors. PLOS ONE 8, e76188. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076188

Pilegaard, H., Saltin, B., Neufer, P.D., 2003. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1alpha gene in human skeletal muscle. J Physiol 546, 851–858. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.034850

Pizzorno, J., 2014. Glutathione! Integrative Medicine: A Clinician's Journal 13, 8.

Plotkin, D.L., Roberts, M.D., Haun, C.T., Schoenfeld, B.J., 2021. Muscle Fiber Type Transitions with Exercise Training: Shifting Perspectives. Sports 9, 127. https://doi.org/10.3390/sports9090127

Poirier, H., Niot, I., Monnot, M.C., Braissant, O., Meunier-Durmort, C., Costet, P., Pineau, T., Wahli, W., Willson, T.M., Besnard, P., 2001. Differential involvement of peroxisome-proliferator-activated receptors alpha and delta in fibrate and fatty-acid-mediated inductions of the gene encoding liver fatty-acid-binding protein in the liver and the small intestine. Biochem J 355, 481–488.

Poitout, V., Robertson, R.P., 2008. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. Endocr Rev 29, 351–366. https://doi.org/10.1210/er.2007-0023

Poli, G., Albano, E., Dianzani, M.U., 1987. The role of lipid peroxidation in liver damage. Chemistry and Physics of Lipids 45, 117–142. https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90063-6

Ponziani, F.R., Pecere, S., Gasbarrini, A., Ojetti, V., 2015. Physiology and pathophysiology of liver lipid metabolism. Expert Rev Gastroenterol Hepatol 9, 1055–1067. https://doi.org/10.1586/17474124.2015.1056156

Powers, J.D., Malingen, S.A., Regnier, M., Daniel, T.L., 2021. The Sliding Filament Theory Since Andrew Huxley: Multiscale and Multidisciplinary Muscle Research. Annu Rev Biophys 50, 373–400. https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-110320-062613

Puengpan, S., Phetrungnapha, A., Sattayakawee, S., Tunsophon, S., 2024. Phycocyanin attenuates skeletal muscle damage and fatigue via modulation of Nrf2 and IRS-1/AKT/mTOR pathway in exercise-induced oxidative stress in rats. PLOS ONE 19, e0310138. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0310138

Puri, P., Baillie, R.A., Wiest, M.M., Mirshahi, F., Choudhury, J., Cheung, O., Sargeant, C., Contos, M.J., Sanyal, A.J., 2007. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 46, 1081–1090. https://doi.org/10.1002/hep.21763

Q

Qiu, Y., Gan, M., Wang, X., Liao, T., Chen, Q., Lei, Y., Chen, L., Wang, J., Zhao, Y., Niu, L., Wang, Y., Zhang, S., Zhu, L., Shen, L., 2023. The global perspective on peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) in ectopic fat deposition: A review. International Journal of Biological Macromolecules 253, 127042.

https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127042

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D.R., Li, J., Xu, J., Li, Shaochuan, Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J.-M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H.B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Li, Shengting, Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Li, Songgang, Qin, N., Yang, H., Wang, Jian, Brunak, S., Doré, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., MetaHIT Consortium, Bork, P., Ehrlich, S.D., Wang, Jun, 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464, 59–65. https://doi.org/10.1038/nature08821

Quinn, R., 2005. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? Nutrition 21, 775–777. https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.04.002

R

Rackham, O., Filipovska, A., 2022. Organization and expression of the mammalian mitochondrial genome. Nat Rev Genet 23, 606–623. https://doi.org/10.1038/s41576-022-00480-x

Radak, Z., Chung, H.Y., Goto, S., 2005. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. Biogerontology 6, 71–75. https://doi.org/10.1007/s10522-004-7386-7

Rakhshandehroo, M., Hooiveld, G., Müller, M., Kersten, S., 2009. Comparative Analysis of Gene Regulation by the Transcription Factor PPARα between Mouse and Human. PLOS ONE 4, e6796. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006796

Ramos-Jiménez, A., Zavala-Lira, R.A., Moreno-Brito, V., González-Rodríguez, E., 2023. FAT/CD36 Participation in Human Skeletal Muscle Lipid Metabolism: A Systematic Review. Journal of Clinical Medicine 12, 318. https://doi.org/10.3390/jcm12010318

Ranchordas, M.K., Rogerson, D., Soltani, H., Costello, J.T., 2017. Antioxidants for preventing and reducing muscle soreness after exercise. Cochrane Database Syst Rev 2017, CD009789. https://doi.org/10.1002/14651858.CD009789.pub2

Randle, P.J., Garland, P.B., Hales, C.N., Newsholme, E.A., 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet 1, 785–789. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(63)91500-9

Randle, P.J., Kerbey, A.L., Espinal, J., 1988. Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. Diabetes Metab Rev 4, 623–638. https://doi.org/10.1002/dmr.5610040702

Raposo, A., Saraiva, A., Ramos, F., Carrascosa, C., Raheem, D., Bárbara, R., Silva, H., 2021. The Role of Food Supplementation in Microcirculation—A Comprehensive Review. Biology 10, 616. https://doi.org/10.3390/biology10070616

Reagan-Shaw, S., Nihal, M., Ahmad, N., 2008. Dose translation from animal to human studies revisited. The FASEB Journal 22, 659–661. https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSF

Repici, A., Hasan, A., Capra, A.P., Scuderi, S.A., Paterniti, I., Campolo, M., Ardizzone, A., Esposito, E., 2024. Marine Algae and Deriving Biomolecules for the Management of Inflammatory Bowel Diseases: Potential Clinical Therapeutics to Decrease Gut Inflammatory and Oxidative Stress Markers? Marine Drugs 22, 336. https://doi.org/10.3390/md22080336

Ribeiro, C.B., Christofoletti, D.C., Pezolato, V.A., de Cássia Marqueti Durigan, R., Prestes, J., Tibana, R.A., Pereira, E.C.L., de Sousa Neto, I.V., Durigan, J.L.Q., da Silva, C.A., 2015. Leucine minimizes denervation-induced skeletal muscle atrophy of rats through akt/mtor signaling pathways. Front Physiol 6, 73. https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00073

Riddell, M.C., Jamnik, V.K., Iscoe, K.E., Timmons, B.W., Gledhill, N., 2008. Fat oxidation rate and the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation decreases with pubertal status in young male subjects. J Appl Physiol (1985) 105, 742–748. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01256.2007

Ridlon, J.M., Kang, D.J., Hylemon, P.B., Bajaj, J.S., 2014. Bile acids and the gut microbiome. Curr Opin

Gastroenterol 30, 332–338. https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000057

Rimbaud, S., Garnier, A., Ventura-Clapier, R., 2009. Mitochondrial biogenesis in cardiac pathophysiology. Pharmacol Rep 61, 131–138. https://doi.org/10.1016/s1734-1140(09)70015-5

Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Klöting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M., Stumvoll, M., Kahn, C.R., Blüher, M., 2009. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences 106, 8665–8670. https://doi.org/10.1073/pnas.0903485106

Roberts, L.J., Morrow, J.D., 2000. Measurement of F(2)-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. Free Radic Biol Med 28, 505–513. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00264-6

Röder, P.V., Wu, B., Liu, Y., Han, W., 2016. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. Exp Mol Med 48, e219–e219. https://doi.org/10.1038/emm.2016.6

Rodríguez-Barbero, S., González-Ravé, J.M., Vanwanseele, B., Juárez Santos-García, D., Muñoz de la Cruz, V., González-Mohíno, F., 2025. Effects of 20 Weeks of Endurance and Strength Training on Running Economy, Maximal Aerobic Speed, and Gait Kinematics in Trained Runners. Applied Sciences 15, 903. https://doi.org/10.3390/app15020903

Roepstorff, C., Halberg, N., Hillig, T., Saha, A.K., Ruderman, N.B., Wojtaszewski, J.F.P., Richter, E.A., Kiens, B., 2005. Malonyl-CoA and carnitine in regulation of fat oxidation in human skeletal muscle during exercise. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 288, E133–E142. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00379.2004

Roman, W., Gomes, E.R., 2018. Nuclear positioning in skeletal muscle. Seminars in Cell & Developmental Biology, SI: Nuclear positioning 82, 51–56. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.11.005

Romay, C., Armesto, J., Remirez, D., González, R., Ledon, N., García, I., 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm. res. 47, 36–41. https://doi.org/10.1007/s000110050256

Rudenko, N.N., Vetoshkina, D.V., Marenkova, T.V., Borisova-Mubarakshina, M.M., 2023. Antioxidants of Non-Enzymatic Nature: Their Function in Higher Plant Cells and the Ways of Boosting Their Biosynthesis. Antioxidants (Basel) 12, 2014. https://doi.org/10.3390/antiox12112014

Ruderman, N.B., Saha, A.K., Vavvas, D., Witters, L.A., 1999. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 276, E1–E18. https://doi.org/10.1152/ajpendo.1999.276.1.E1

Rustin, P., Jacobs, H.T., Dietrich, A., Lightowlers, R.N., Tarassov, I., Corral-Debrinski, M., 2007. Adresser du matériel allogène dans le compartiment mitochondrial - Un défi pour comprendre la physiologie mitochondriale et une perspective pour la thérapie. Med Sci (Paris) 23, 519–525. https://doi.org/10.1051/medsci/2007235519

S

Sahlin, K., Harris, R.C., 2011. The creatine kinase reaction: a simple reaction with functional complexity. Amino Acids 40, 1363–1367. https://doi.org/10.1007/s00726-011-0856-8

Sahoo, K., Sahoo, B., Choudhury, A.K., Sofi, N.Y., Kumar, R., Bhadoria, A.S., 2015. Childhood obesity: causes and consequences. Journal of Family Medicine and Primary Care 4, 187. https://doi.org/10.4103/2249-4863.154628

Sakellariou, G.K., Vasilaki, A., Palomero, J., Kayani, A., Zibrik, L., McArdle, A., 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, 603–621. https://doi.org/10.1089/ars.2012.4623

Sanchez, A.M.J., Candau, R.B., Csibi, A., Pagano, A.F., Raibon, A., 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, C475-485. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00125.2012

Sanchez, C., 2023. Impact du rapport ω6/ω3 sur le développement de l'obésité, la neuroinflammation et les déficits cognitifs associés (These de doctorat). Université Côte d'Azur.

Sanders, F.W.B., Griffin, J.L., 2016. De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. Biological Reviews 91, 452–468. https://doi.org/10.1111/brv.12178

Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., Abd_Allah, E.F., 2019. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. Saudi Journal of Biological Sciences 26, 709–722. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003

Scarpulla, R.C., Vega, R.B., Kelly, D.P., 2012. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis. Trends Endocrinol Metab 23, 459–466. https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.06.006

Scheiman, J., Luber, J.M., Chavkin, T.A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L.-D., Wibowo, M.C., Wurth, R.C., Punthambaker, S., Tierney, B.T., Yang, Z., Hattab, M.W., Avila-Pacheco, J., Clish, C.B., Lessard, S., Church, G.M., Kostic, A.D., 2019. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. Nat Med 25, 1104–1109. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0485-4

Schiaffino, S., Reggiani, C., 2011. Fiber Types in Mammalian Skeletal Muscles. Physiological Reviews 91, 1447–1531. https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2010

Schiaffino, S., Reggiani, C., Akimoto, T., Blaauw, B., 2021. Molecular Mechanisms of Skeletal Muscle Hypertrophy. J Neuromuscul Dis 8, 169–183. https://doi.org/10.3233/JND-200568

Schrauwen-Hinderling, V.B., Hesselink, M.K.C., Schrauwen, P., Kooi, M.E., 2006. Intramyocellular Lipid Content in Human Skeletal Muscle. Obesity 14, 357–367. https://doi.org/10.1038/oby.2006.47

Schulze, R.J., Schott, M.B., Casey, C.A., Tuma, P.L., McNiven, M.A., 2019. The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. Journal of Cell Biology 218, 2096–2112. https://doi.org/10.1083/jcb.201903090

Schutz, Y., 2011. Protein Turnover, Ureagenesis and Gluconeogenesis. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 81, 101–107. https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000064

Schwarz, J.-M., Linfoot, P., Dare, D., Aghajanian, K., 2003. Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets123. The American Journal of Clinical Nutrition 77, 43–50. https://doi.org/10.1093/ajcn/77.1.43

Schwarz, J.-M., Noworolski, S.M., Wen, M.J., Dyachenko, A., Prior, J.L., Weinberg, M.E., Herraiz, L.A., Tai, V.W., Bergeron, N., Bersot, T.P., Rao, M.N., Schambelan, M., Mulligan, K., 2015. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. J Clin Endocrinol Metab 100, 2434–2442. https://doi.org/10.1210/jc.2014-3678

Scicchitano, B.M., Pelosi, L., Sica, G., Musarò, A., 2018. The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle. Mechanisms of Ageing and Development 170, 37–44. https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.08.009

Seidell, J.C., 1998. Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective. Am J Clin Nutr 67, 546S-550S. https://doi.org/10.1093/ajcn/67.3.546S

Sen, U., Coleman, C., Sen, T., 2023. Stearoyl coenzyme A desaturase-1: multitasker in cancer, metabolism, and ferroptosis. Trends in Cancer 9, 480–489. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2023.03.003

Sender, R., Fuchs, S., Milo, R., 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol 14, e1002533. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533

Sengupta, P., 2013. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. Int J Prev Med 4, 624–630.

Settembre, C., Ballabio, A., 2014. Lysosome: regulator of lipid degradation pathways. Trends Cell Biol 24, 743–750. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.06.006

Severinsen, M.C.K., Pedersen, B.K., 2020. Muscle-Organ Crosstalk: The Emerging Roles of Myokines. Endocr Rev 41, 594–609. https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa016

Shadrin, I.Y., Khodabukus, A., Bursac, N., 2016. Striated muscle function, regeneration, and repair. Cell Mol Life Sci 73, 4175–4202. https://doi.org/10.1007/s00018-016-2285-z

Shanazari, Z., Faramarzi, M., Banitalebi, E., Hemmati, R., 2019. Effect of moderate and high-intensity

endurance and resistance training on serum concentrations of MSTN and IGF-1 in old male Wistar rats. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation 38. https://doi.org/10.1515/hmbci-2018-0066

Shaw, C.S., Clark, J., Wagenmakers, A.J.M., 2010. The Effect of Exercise and Nutrition on Intramuscular Fat Metabolism and Insulin Sensitivity. Annual Review of Nutrition 30, 13–34. https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104817

Sherman, W.M., Costill, D.L., Fink, W.J., Miller, J.M., 1981. Effect of Exercise-Diet Manipulation on Muscle Glycogen and Its Subsequent Utilization During Performance*. Int J Sports Med 02, 114–118. https://doi.org/10.1055/s-2008-1034594

Shoham, S., Pintel, N., Avni, D., 2025. Oxidative Stress, Gut Bacteria, and Microalgae: A Holistic Approach to Manage Inflammatory Bowel Diseases. Antioxidants 14, 697. https://doi.org/10.3390/antiox14060697

Short, K.R., Vittone, J.L., Bigelow, M.L., Proctor, D.N., Nair, K.S., 2004. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab 286, E92-101. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00366.2003

Sies, H., 2017. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. Redox Biol 11, 613–619. https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035

Silva-Neto, A.F., Fratelli, C., Pucci, V.G., Boldarine, V.T., Ferreira, Y.A.M., Telles, M.M., Braga, A.R.C., Oyama, L.M., 2023. C-phycocyanin extracted from Spirulina using a green solvent approach presents an anti-obesity characteristic in mice fed a hyperlipidic diet. Journal of Functional Foods 108, 105747. https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105747

Sinetova, M.A., Kupriyanova, E.V., Los, D.A., 2024. Spirulina/Arthrospira/Limnospira—Three Names of the Single Organism. Foods 13, 2762. https://doi.org/10.3390/foods13172762

Singhal, N.S., Patel, R.T., Qi, Y., Lee, Y.-S., Ahima, R.S., 2008. Loss of resistin ameliorates hyperlipidemia and hepatic steatosis in leptin-deficient mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 295, E331–E338. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00577.2007

Slover, H.T., Lanza, E., 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. Journal of the American Oil Chemists' Society 56, 933. https://doi.org/10.1007/BF02674138

Son, Y.A., Shim, J.A., Hong, S., Kim, M.K., 2009. Intake of Chlorella vulgaris improves antioxidative capacity in rats oxidatively stressed with dietary cadmium. Ann Nutr Metab 54, 7–14. https://doi.org/10.1159/000199453

Song, A., Wang, C., Ren, L., Zhao, J., 2014. Swimming improves high-fat induced insulin resistance by regulating lipid and energy metabolism and the insulin pathway in rats. International Journal of Molecular Medicine 33, 1671–1679. https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1738

Sorensen, M., Sanz, A., Gómez, J., Pamplona, R., Portero-Otín, M., Gredilla, R., Barja, G., 2006. Effects of fasting on oxidative stress in rat liver mitochondria. Free Radic Res 40, 339–347. https://doi.org/10.1080/10715760500250182

Soriano-Maldonado, A., Martínez-Forte, S., Ferrer-Márquez, M., Martínez-Rosales, E., Hernández-Martínez, A., Carretero-Ruiz, A., Villa-González, E., Barranco-Ruiz, Y., Rodríguez-Pérez, M.A., Torrente-Sánchez, M.J., Carmona-Rodríguez, L., Soriano-Maldonado, P., Vargas-Hitos, J.A., Casimiro-Andújar, A.J., Artero, E.G., Fernández-Alonso, A.M., 2020. Physical Exercise following bariatric surgery in women with Morbid obesity: Study protocol clinical trial (SPIRIT compliant). Medicine 99, e19427. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000019427

Sotiroudis, T.G., Sotiroudis, G.T., 2013. Health aspects of Spirulina (Arthrospira) microalga food supplement. Journal of the Serbian Chemical Society 78, 395–405.

Spătărelu, M., Popa, A.R., 2021. Obesity, a disease of the modern society. Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases 28, 93–100.

Speakman, J.R., 2019. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. Int J Obes 43, 1491–1492. https://doi.org/10.1038/s41366-019-0363-7

Spriet, L.L., 2002. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans: Medicine & Science in Sports & Exercise 34, 1477–1484. https://doi.org/10.1097/00005768-200209000-00013

Spriet, L.L., Watt, M.J., 2003. Regulatory mechanisms in the interaction between carbohydrate and lipid oxidation during exercise. Acta Physiologica Scandinavica 178, 443–452. https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01152.x

Stephens, F.B., Constantin-Teodosiu, D., Greenhaff, P.L., 2007. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. The Journal of Physiology 581, 431–444. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.125799

Steppan, C.M., Bailey, S.T., Bhat, S., Brown, E.J., Banerjee, R.R., Wright, C.M., Patel, H.R., Ahima, R.S., Lazar, M.A., 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature 409, 307–312. https://doi.org/10.1038/35053000

Steptoe, A., Frank, P., 2023. Obesity and psychological distress. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 378, 20220225. https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0225

St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J.M., Rhee, J., Jäger, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., Simon, D.K., Bachoo, R., Spiegelman, B.M., 2006. Suppression of Reactive Oxygen Species and Neurodegeneration by the PGC-1 Transcriptional Coactivators. Cell 127, 397–408. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.024

Strable, M.S., and Ntambi, J.M., 2010. Genetic control of de novo lipogenesis: role in diet-induced obesity. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 45, 199–214. https://doi.org/10.3109/10409231003667500

Strobel, N.A., Peake, J.M., Matsumoto, A., Marsh, S.A., Coombes, J.S., Wadley, G.D., 2011. Antioxidant Supplementation Reduces Skeletal Muscle Mitochondrial Biogenesis. Medicine & Science in Sports & Exercise 43, 1017–1024. https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318203afa3

Studýnková, J.T., Kuchen, S., Jeisy, E., Schedel, J., Charvát, F., Jarosová, K., Sprott, H., Matucci-Cerinic, M., Gay, R.E., Michel, B.A., Pavelka, K., Vencovský, J., Gay, S., 2004. The expression of cyclooxygenase-1, cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in inflammatory muscle tissue of patients with polymyositis and dermatomyositis. Clin Exp Rheumatol 22, 395–402.

Sullivan-Gunn, M.J., Campbell-O'Sullivan, S.P., Tisdale, M.J., Lewandowski, P.A., 2011. Decreased NADPH oxidase expression and antioxidant activity in cachectic skeletal muscle. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2, 181–188. https://doi.org/10.1007/s13539-011-0037-3

Sumadewi, K.T., 2023. Embryology, anatomy and physiology of the liver: Review. IJCAP 10, 138–144. https://doi.org/10.18231/j.ijcap.2023.031

Szwed, A., Kim, E., Jacinto, E., 2021. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. Physiol Rev 101, 1371–1426. https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020

T

Tahri-Joutey, M., Andreoletti, P., Surapureddi, S., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., Latruffe, N., 2021. Mechanisms Mediating the Regulation of Peroxisomal Fatty Acid Beta-Oxidation by PPAR? International Journal of Molecular Sciences 22, 8969. https://doi.org/10.3390/ijms22168969

Tamel Selvan, K., Goon, J.A., Makpol, S., Tan, J.K., 2023. Effects of Microalgae on Metabolic Syndrome. Antioxidants 12, 449. https://doi.org/10.3390/antiox12020449

Tao, L., Guo, X., Xu, M., Wang, Y., Xie, W., Chen, H., Ma, M., Li, X., 2021. Dexmedetomidine ameliorates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease by targeting SCD1 in obesity mice. Pharmacology Research & Perspectives 9, e00700. https://doi.org/10.1002/prp2.700

Tennant, B.C., 1997. Chapter 13 - Hepatic Function, in: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals (Fifth Edition). Academic Press, San Diego, pp. 327–352. https://doi.org/10.1016/B978-012396305-5/50014-2

Terry, M.J., Maines, M.D., Lagarias, J.C., 1993. Inactivation of phytochrome- and phycobiliprotein-chromophore precursors by rat liver biliverdin reductase. J Biol Chem 268, 26099–26106.

Thomson, D.M., 2018. The Role of AMPK in the Regulation of Skeletal Muscle Size, Hypertrophy, and

Regeneration. Int J Mol Sci 19, 3125. https://doi.org/10.3390/ijms19103125

Thorbek, P.D.G., Chwalibog, A., Eggum, D.B.O., Christensen, K., 1982. Studies on Growth, Nitrogen and Energy Metabolism in Rats. Archiv für Tierernaehrung. https://doi.org/10.1080/17450398209421032

Thorens, B., 2015. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. Diabetologia 58, 221–232. https://doi.org/10.1007/s00125-014-3451-1

Tillander, V., Alexson, S.E.H., Cohen, D.E., 2017. Deactivating Fatty Acids: Acyl-CoA Thioesterase-Mediated Control of Lipid Metabolism. Trends Endocrinol Metab 28, 473–484. https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.03.001

Tiraby, C., Langin, D., 2005. PGC-1α, un co-activateur transcriptionnel impliqué dans le métabolisme. Med Sci (Paris) 21, 49–54. https://doi.org/10.1051/medsci/200521149

Tocher, D.R., Glencross, B.D., 2015. Lipids and Fatty Acids, in: Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 47–94. https://doi.org/10.1002/9781119005568.ch3

Traber, M.G., 2007. Vitamin E regulatory mechanisms. Annu Rev Nutr 27, 347–362. https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093819

Trappe, S., Harber, M., Creer, A., Gallagher, P., Slivka, D., Minchev, K., Whitsett, D., 2006. Single muscle fiber adaptations with marathon training. Journal of Applied Physiology 101, 721–727. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01595.2005

Trefts, E., Gannon, M., Wasserman, D.H., 2017. The liver. Curr Biol 27, R1147–R1151. https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019

Tripathi, A., Debelius, J., Brenner, D.A., Karin, M., Loomba, R., Schnabl, B., Knight, R., 2018. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 15, 397–411. https://doi.org/10.1038/s41575-018-0011-z

Tripathy, S., Lytle, K.A., Stevens, R.D., Bain, J.R., Newgard, C.B., Greenberg, A.S., Huang, L.-S., Jump, D.B., 2014. Fatty acid elongase-5 (Elovl5) regulates hepatic triglyceride catabolism in obese C57BL/6J mice[S]. Journal of Lipid Research 55, 1448–1464. https://doi.org/10.1194/jlr.M050062

Tsikas, D., 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. Anal Biochem 524, 13–30. https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021

Tskhovrebova, L., Trinick, J., 2010. Roles of Titin in the Structure and Elasticity of the Sarcomere. BioMed Research International 2010, 612482. https://doi.org/10.1155/2010/612482

Tsukamoto, H., 2005. Fat paradox in liver disease. The Keio Journal of Medicine 54, 190–192. https://doi.org/10.2302/kjm.54.190

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., Gordon, J.I., 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444, 1027–1031. https://doi.org/10.1038/nature05414

U

Upadhyay, J., Farr, O., Perakakis, N., Ghaly, W., Mantzoros, C., 2018. Obesity as a Disease. Medical Clinics 102, 13–33. https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.08.004

V

Valdes, A.M., Walter, J., Segal, E., Spector, T.D., 2018. Role of the gut microbiota in nutrition and health. BMJ 361, k2179. https://doi.org/10.1136/bmj.k2179

Valenzuela B., R., Valenzuela B, A., B, R.V., B, A.V., 2013. Overview About Lipid Structure, in: Lipid Metabolism. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/52306

Valenzuela, R., Barrera, C., Espinosa, A., Llanos, P., Orellana, P., Videla, L.A., 2015. Reduction in the desaturation capacity of the liver in mice subjected to high fat diet: Relation to LCPUFA depletion in liver and

extrahepatic tissues. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 98, 7–14. https://doi.org/10.1016/j.plefa.2015.04.002

Van den Hoek, A.M., de Jong, J.C.B.C., Worms, N., van Nieuwkoop, A., Voskuilen, M., Menke, A.L., Lek, S., Caspers, M.P.M., Verschuren, L., Kleemann, R., 2021. Diet and exercise reduce pre-existing NASH and fibrosis and have additional beneficial effects on the vasculature, adipose tissue and skeletal muscle via organ-crosstalk. Metabolism 124, 154873. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154873

Van der Windt, D.J., Sud, V., Zhang, H., Tsung, A., Huang, H., 2018. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. Gene Expr 18, 89–101. https://doi.org/10.3727/105221617X15124844266408

Van Gaal, L.F., Mertens, I.L., De Block, C.E., 2006. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. Nature 444, 875–880. https://doi.org/10.1038/nature05487

Van Loon, L.J.C., 2004. Use of intramuscular triacylglycerol as a substrate source during exercise in humans. Journal of Applied Physiology 97, 1170–1187. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00368.2004

Van Loon, L.J.C., Jeukendrup, A.E., Saris, W.H.M., Wagenmakers, A.J.M., 1999. Effect of training status on fuel selection during submaximal exercise with glucose ingestion. Journal of Applied Physiology 87, 1413–1420. https://doi.org/10.1152/jappl.1999.87.4.1413

Vandervoort, A.A., McComas, A.J., 1983. A comparison of the contractile properties of the human gastrocnemius and soleus muscles. Europ. J. Appl. Physiol. 51, 435–440. https://doi.org/10.1007/BF00429079

Veerappa, S., McClure, J., 2020. Intermediary metabolism. Anaesthesia & Intensive Care Medicine 21, 162–167. https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2020.01.003

Velloso, C.P., 2008. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. Br J Pharmacol 154, 557–568. https://doi.org/10.1038/bjp.2008.153

Venables, M.C., Achten, J., Jeukendrup, A.E., 2005. Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. Journal of Applied Physiology 98, 160–167. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00662.2003

Venditti, P., Meo, S.D., 1997. Effect of Training on Antioxidant Capacity, Tissue Damage, and Endurance of Adult Male Rats. Int J Sports Med 18, 497–502. https://doi.org/10.1055/s-2007-972671

Ventura, R., Martínez-Ruiz, I., Hernández-Alvarez, M.I., 2022. Phospholipid Membrane Transport and Associated Diseases. Biomedicines 10, 1201. https://doi.org/10.3390/biomedicines10051201

Venugopal, S.K., Anoruo, M., Jialal, I., 2025. Biochemistry, Low Density Lipoprotein, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Vercellino, I., Sazanov, L.A., 2022. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. Nat Rev Mol Cell Biol 23, 141–161. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00415-0

Verni, M., Demarinis, C., Rizzello, C.G., Pontonio, E., 2023. Bioprocessing to Preserve and Improve Microalgae Nutritional and Functional Potential: Novel Insight and Perspectives. Foods 12, 983. https://doi.org/10.3390/foods12050983

Videla, L.A., Hernandez-Rodas, M.C., Metherel, A.H., Valenzuela, R., 2022. Influence of the nutritional status and oxidative stress in the desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids: Impact on non-alcoholic fatty liver disease. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 181, 102441. https://doi.org/10.1016/j.plefa.2022.102441

Vieira-Lara, M.A., Bakker, B.M., 2024. The paradox of fatty-acid β-oxidation in muscle insulin resistance: Metabolic control and muscle heterogeneity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease 1870, 167172. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167172

Vignaud, J., Loiseau, C., Hérault, J., Mayer, C., Côme, M., Martin, I., Ulmann, L., 2023. Microalgae Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions and Skeletal Muscular Oxidative Stress. Antioxidants 12, 1050. https://doi.org/10.3390/antiox12051050

Villar-Palasí, C., Guinovart, J.J., 1997. The role of glucose 6-phosphate in the control of glycogen synthase. FASEB J 11, 544–558.

Viña, J., Gomez-Cabrera, M.C., Lloret, A., Marquez, R., Miñana, J.B., Pallardó, F.V., Sastre, J., 2000. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. IUBMB Life 50, 271–277. https://doi.org/10.1080/713803729

Vollaard, N.B.J., Constantin-Teodosiu, D., Fredriksson, K., Rooyackers, O., Jansson, E., Greenhaff, P.L., Timmons, J.A., Sundberg, C.J., 2009. Systematic analysis of adaptations in aerobic capacity and submaximal energy metabolism provides a unique insight into determinants of human aerobic performance. J Appl Physiol (1985) 106, 1479–1486. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.91453.2008

Von Schacky, C., 2021. Importance of EPA and DHA Blood Levels in Brain Structure and Function. Nutrients 13, 1074. https://doi.org/10.3390/nu13041074

W

Wang, M., Wang, K., Liao, X., Hu, H., Chen, L., Meng, L., Gao, W., Li, Q., 2021. Carnitine Palmitoyltransferase System: A New Target for Anti-Inflammatory and Anticancer Therapy? Front. Pharmacol. 12. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760581

Wang, Y., Botolin, D., Xu, J., Christian, B., Mitchell, E., Jayaprakasam, B., Nair, M., Peters, J.M., Busik, J., Olson, L.K., Jump, D.B., 2006. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. J Lipid Res 47, 2028–2041. https://doi.org/10.1194/jlr.M600177-JLR200

Weaver, C.M., Dwyer, J., Fulgoni, V.L., King, J.C., Leveille, G.A., MacDonald, R.S., Ordovas, J., Schnakenberg, D., 2014. Processed foods: contributions to nutrition. Am J Clin Nutr 99, 1525–1542. https://doi.org/10.3945/ajcn.114.089284

Wilfling, F., Haas, J.T., Walther, T.C., Farese, R.V., 2014. Lipid Droplet Biogenesis. Curr Opin Cell Biol 29, 39–45. https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.03.008

Wilkinson, S.B., Phillips, S.M., Atherton, P.J., Patel, R., Yarasheski, K.E., Tarnopolsky, M.A., Rennie, M.J., 2008. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. J Physiol 586, 3701–3717. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.153916

Willis, L.H., Slentz, C.A., Bateman, L.A., Shields, A.T., Piner, L.W., Bales, C.W., Houmard, J.A., Kraus, W.E., 2012. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. Journal of Applied Physiology 113, 1831–1837. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01370.2011

Winterbourn, C.C., 1995. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. Toxicol Lett 82–83, 969–974. https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03532-x

Winterbourn, C.C., Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B., 1985. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O2. Journal of Free Radicals in Biology & Medicine 1, 43–49. https://doi.org/10.1016/0748-5514(85)90028-5

Wong, S.K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F.H., Fairus, A., Ima-Nirwana, S., 2016. Animal models of metabolic syndrome: a review. Nutr Metab (Lond) 13, 65. https://doi.org/10.1186/s12986-016-0123-9

Woodward, M., Debold, E.P., 2018. Acidosis and Phosphate Directly Reduce Myosin's Force-Generating Capacity Through Distinct Molecular Mechanisms. Front. Physiol. 9. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00862

World Health Organization, 2024. Obesity and overweight [WWW Document]. URL https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight (accessed 11.29.24).

Wozniak, S.E., Gee, L.L., Wachtel, M.S., Frezza, E.E., 2009. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. Dig Dis Sci 54, 1847–1856. https://doi.org/10.1007/s10620-008-0585-3

Wright, D.C., Han, D.-H., Garcia-Roves, P.M., Geiger, P.C., Jones, T.E., Holloszy, J.O., 2007. Exercise-induced Mitochondrial Biogenesis Begins before the Increase in Muscle PGC-1α Expression *. Journal of Biological Chemistry 282, 194–199. https://doi.org/10.1074/jbc.M606116200

Wu, G., 2010. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. Adv Nutr 1, 31–37. https://doi.org/10.3945/an.110.1008

Wu, H., Jin, M., Han, D., Zhou, M., Mei, X., Guan, Y., Liu, C., 2015. Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway. Biochem Biophys Res Commun 458, 862–868. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.046

Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., Kuča, K., 2016. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. Arch Toxicol 90, 1817–1840. https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5

Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C., Spiegelman, B.M., 1999. Mechanisms Controlling Mitochondrial Biogenesis and Respiration through the Thermogenic Coactivator PGC-1. Cell 98, 115–124. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80611-X

X

Xie, Y., Li, W., Zhu, L., Zhai, S., Qin, S., Du, Z., 2019. Effects of phycocyanin in modulating the intestinal microbiota of mice. MicrobiologyOpen 8, e00825. https://doi.org/10.1002/mbo3.825

Xirouchaki, C.E., Mangiafico, S.P., Bate, K., Ruan, Z., Huang, A.M., Tedjosiswoyo, B.W., Lamont, B., Pong, W., Favaloro, J., Blair, A.R., Zajac, J.D., Proietto, J., Andrikopoulos, S., 2016. Impaired glucose metabolism and exercise capacity with muscle-specific glycogen synthase 1 (gys1) deletion in adult mice. Mol Metab 5, 221–232. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.01.004

Xu, J., Nakamura, M.T., Cho, H.P., Clarke, S.D., 1999. Sterol Regulatory Element Binding Protein-1 Expression Is Suppressed by Dietary Polyunsaturated Fatty Acids: A MECHANISM FOR THE COORDINATE SUPPRESSION OF LIPOGENIC GENES BY POLYUNSATURATED FATS *. Journal of Biological Chemistry 274, 23577–23583. https://doi.org/10.1074/jbc.274.33.23577

Y

Yang, W.-H., Park, H., Grau, M., Heine, O., 2020. Decreased Blood Glucose and Lactate: Is a Useful Indicator of Recovery Ability in Athletes? International Journal of Environmental Research and Public Health 17, 5470. https://doi.org/10.3390/ijerph17155470

Yasari, S., Prud'homme, D., Wang, D., Jankowski, M., Levy, É., Gutkowska, J., Lavoie, J.-M., 2010. Exercise training decreases hepatic SCD-1 gene expression and protein content in rats. Mol Cell Biochem 335, 291–299. https://doi.org/10.1007/s11010-009-0279-y

Ye, G., Gao, H., Wang, Z., Lin, Y., Liao, X., Zhang, H., Chi, Y., Zhu, H., Dong, S., 2019. PPARα and PPARγ activation attenuates total free fatty acid and triglyceride accumulation in macrophages via the inhibition of Fatp1 expression. Cell Death Dis 10, 1–14. https://doi.org/10.1038/s41419-018-1135-3

Yiew, N.K.H., Finck, B.N., 2022. The mitochondrial pyruvate carrier at the crossroads of intermediary metabolism. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 323, E33–E52. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00074.2022

Youn, J.-Y., Siu, K.L., Lob, H.E., Itani, H., Harrison, D.G., Cai, H., 2014. Role of Vascular Oxidative Stress in Obesity and Metabolic Syndrome. Diabetes 63, 2344–2355. https://doi.org/10.2337/db13-0719

Yun, H.-Y., Lee, T., Jeong, Y., 2020. High-Fat Diet Increases Fat Oxidation and Promotes Skeletal Muscle Fatty Acid Transporter Expression in Exercise-Trained Mice. Journal of Medicinal Food 23, 281–288. https://doi.org/10.1089/jmf.2019.4651

Z

Zagorsky, J.L., Smith, P.K., 2017. The association between socioeconomic status and adult fast-food consumption in the U.S. Econ Hum Biol 27, 12–25. https://doi.org/10.1016/j.ehb.2017.04.004

Zámbó, V., Simon-Szabó, L., Szelényi, P., Kereszturi, É., Bánhegyi, G., Csala, M., 2013. Lipotoxicity in the liver. World J Hepatol 5, 550–557. https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i10.550

Zarezadeh, M., Faghfouri, A.H., Radkhah, N., Foroumandi, E., Khorshidi, M., Rasouli, A., Zarei, M., Mohammadzadeh Honarvar, N., Hazhir Karzar, N., Ebrahimi Mamaghani, M., 2021. Spirulina supplementation and anthropometric indices: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. Phytother Res 35, 577–586. https://doi.org/10.1002/ptr.6834

Zhang, D.D., Hannink, M., 2003. Distinct Cysteine Residues in Keap1 Are Required for Keap1-Dependent Ubiquitination of Nrf2 and for Stabilization of Nrf2 by Chemopreventive Agents and Oxidative Stress. Molecular and Cellular Biology 23, 8137–8151. https://doi.org/10.1128/MCB.23.22.8137-8151.2003

Zhang, G., Zhu, M., Liao, Y., Gong, D., Hu, X., 2022. Action mechanisms of two key xanthine oxidase inhibitors in tea polyphenols and their combined effect with allopurinol. Journal of the Science of Food and Agriculture 102, 7195–7208. https://doi.org/10.1002/jsfa.12085

Zhang, L., Liu, Y., Wang, X., Zhang, X., 2023. Physical Exercise and Diet: Regulation of Gut Microbiota to Prevent and Treat Metabolic Disorders to Maintain Health. Nutrients 15, 1539. https://doi.org/10.3390/nu15061539

Zhang, X., Yang, S., Chen, J., Su, Z., 2019. Unraveling the Regulation of Hepatic Gluconeogenesis. Front. Endocrinol. 9. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00802

Zhang, Y., Zhou, W., Yan, J., Liu, M., Zhou, Y., Shen, X., Ma, Y., Feng, X., Yang, J., Li, G., 2018. A Review of the Extraction and Determination Methods of Thirteen Essential Vitamins to the Human Body: An Update from 2010. Molecules 23, 1484. https://doi.org/10.3390/molecules23061484

Zhao, J., Zhai, B., Gygi, S.P., Goldberg, A.L., 2015. mTOR inhibition activates overall protein degradation by the ubiquitin proteasome system as well as by autophagy. Proceedings of the National Academy of Sciences 112, 15790–15797. https://doi.org/10.1073/pnas.1521919112

Ziyaei, K., Abdi, F., Mokhtari, M., Daneshmehr, M.A., Ataie, Z., 2023. Phycocyanin as a nature-inspired antidiabetic agent: A systematic review. Phytomedicine 119, 154964. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154964

Zorov, D.B., Juhaszova, M., Sollott, S.J., 2014. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. Physiological Reviews 94, 909–950. https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013

Zou, K., Hinkley, J.M., Park, S., Zheng, D., Jones, T.E., Pories, W.J., Hornby, P.J., Lenhard, J., Dohm, G.L., Houmard, J.A., 2019. Altered tricarboxylic acid cycle flux in primary myotubes from severely obese humans. Int J Obes 43, 895–905. https://doi.org/10.1038/s41366-018-0137-7

VIII. Annexe 1

antioxidants

MDPI

Review

Microalgae Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions and Skeletal Muscular Oxidative Stress

Jordi Vignaud, Céline Loiseau, Josiane Hérault, Claire Mayer, Martine Côme, Isabelle Martin and Lionel Ulmann *

BiOSSE (Biology of Organisms, Stress, Health, Environment), Institut Universitaire de Technologie, Département Génie Biologique, Le Mans Université, F-53020 Laval, France; jordi.vignaud@univ-lemans.fr (J.V.); celine.loiseau@univ-lemans.fr (C.L.); josiane.herault@univ-lemans.fr (J.H.); claire.mayer@univ-lemans.fr (C.M.); martine.come@univ-lemans.fr (M.C.); isabelle.martin@univ-lemans.fr (I.M.)
* Correspondence: lionel.ulmann@univ-lemans.fr

Abstract: In recent years, microalgae have become a source of molecules for a healthy life. Their composition of carbohydrates, peptides, lipids, vitamins and carotenoids makes them a promising new source of antioxidant molecules. Skeletal muscle is a tissue that requires constant remodeling via protein turnover, and its regular functioning consumes energy in the form of adenosine triphosphate (ATP), which is produced by mitochondria. Under conditions of traumatic exercise or muscular diseases, a high production of reactive oxygen species (ROS) at the origin of oxidative stress (OS) will lead to inflammation and muscle atrophy, with life-long consequences. In this review, we describe the potential antioxidant effects of microalgae and their biomolecules on mitochondrial functions and skeletal muscular oxidative stress during exercises or in musculoskeletal diseases, as in sarcopenia, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and Duchenne muscular dystrophy (DMD), through the increase in and regulation of antioxidant pathways and protein synthesis.

Keywords: microalgae; antioxidant molecules; redox homeostasis; oxidative stress; mitochondrial function; musculoskeletal diseases; exercise

check for updates

Citation: Vignaud, J.; Loiseau, C.; Hérault, J.; Mayer, C.; Côme, M.; Martin, I.; Ulmann, L. Microalgae Produce Antioxidant Molecules with Potential Preventive Effects on Mitochondrial Functions and Skeletal Muscular Oxidative Stress. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1050. https://doi.org/10.3390/antiox12051050

Academic Editors: Bernard Geny and Marianne Riou

Received: 30 March 2023
Revised: 25 April 2023
Accepted: 3 May 2023
Published: 5 May 2023

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The development of new food supplements has aimed to prevent age-related disorders, cardiovascular disease and improve muscle performance or well-being [1–3]. Seafood, and particularly oily fish, is an important source of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs), with beneficial effects on human health [4]. LC-PUFAs present in fish are provided by microalgae, a vast group that belongs to the phytoplankton. Microalgae are the most important part of aquatic ecosystems [5]. These photosynthetic microorganisms are a promising source of many bioactive molecules, such as fatty acids, steroids, carotenoids, polysaccharides, lectins, mycosporine-like amino acids, halogenated compounds, polyketides, toxins, agar–agar, alginic acid and carrageenan [6]. Microalgae contain various compounds with demonstrated potential for human health and medicine. The therapeutic properties of microalgae exhibit a large range of applications, such as in cardiovascular health, anticancer, anti-inflammatory, anticoagulant, antiviral, antibacterial or antifungal human medicinal products. Many bioactive compounds from microalgae have strong beneficial properties that effectively reduce the production of inflammatory compounds against muscle breakdown [7].

Muscle is a dynamic tissue that is rich in mitochondria, the primary function of which is to maintain the supply of ATP through oxidative phosphorylation, I order to facilitate movement. It is an important consumer and producer of essential metabolites, when challenged by aerobic or resistance exercise. This is essential for a healthy life and to prevent

diseases such as Alzheimer's disease, cancer or ageing [8,9]. However, during muscle diseases or traumatic exercises, mitochondria produce metabolites generating oxidative stress (OS) [10]. OS is defined as a chronic imbalance in the pro-oxidant species derived from oxygen and nitrogen (RONS) and antioxidant systems, resulting in increased oxidative damage to various cell components, as well as an alteration of numerous signaling pathways.

The aim of this review is to identify potential source of antioxidant biomolecules from microalgae (biomass and extracted molecules). In parallel, mitochondrial function and oxidative stress associated with exercise or muscle diseases are developed. Then, the preventive effects of microalgal biomass and its bioactive molecules against mitochondrial dysfunction and oxidative stress in muscle are presented.

2. Microalgae as Sources of Molecules with Antioxidant Effects

Although the classification of algae and microalgae may change according to the evolution of analytical tools, these photosynthetic organisms can be broadly classified into red (*Rhodophyta*), brown (*Phaeophyta*) and green algae (*Chlorophyta*) based on their characteristics [11]. Indeed, microalgae are divided into different categories according to their pigment content, morphological distinctions (spherical, elliptic, rod-like, and fusiform cells) and the existence of thorns, cilia and flagella, among other characteristics. Further, they are also grouped based on their size: picoplankton (0.2–2 μm), nanoplankton (2–20 μm) and microplankton (20–200 μm) [12].

Microalgae are unicellular organisms found in aquatic environments. They play a key role in marine ecosystems, forming the basis of the food web as primary producers. These photosynthetic micro-organisms are regarded as one of the best renewable resources for numerous medicinal compounds due to their richness in primary and secondary bioactive metabolites, such as carbohydrates, proteins, lipids, vitamins, pigments, LC-PUFA, polyphenols and other chemicals (Figure 1). Among the various microalgal genera, *Spirulina*, *Chlorella*, *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Nannochloris*, *Botryococcus*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Chaetoceros* and *Skeletonema* are the more widely used microalgae, with commercial value due to their diverse content of therapeutic bioactive compounds [13].

Among molecules produced by microalgae, many are known to have antioxidant activities. These molecules include vitamins, such as vitamins A, C and E, polyphenols, carotenoids and bioflavonoids. Antioxidants are well known to provide health benefits and play an essential role in cell protection from the effects of free radicals. In the context of an increasing demand for these high-value-added products, microalgae are undoubtedly an interesting solution. The antioxidant power of microalgae is equal to or higher than the antioxidant activity of higher plants or fruits. Indeed, in *Chlorophyta* and *Eustigmatophyceae*, the antioxidant potential can reach 260 Trolox equivalents $\mu mol \cdot g^{-1}$ dry matter (DM), while in raspberry, the antioxidant activity reaches 224 Trolox equivalents $\mu mol \cdot g^{-1}$ DM [14]. Thus, for some years now, marine microalgae have been considered a potential source of high-value-added biomolecules, such as antioxidant compounds.

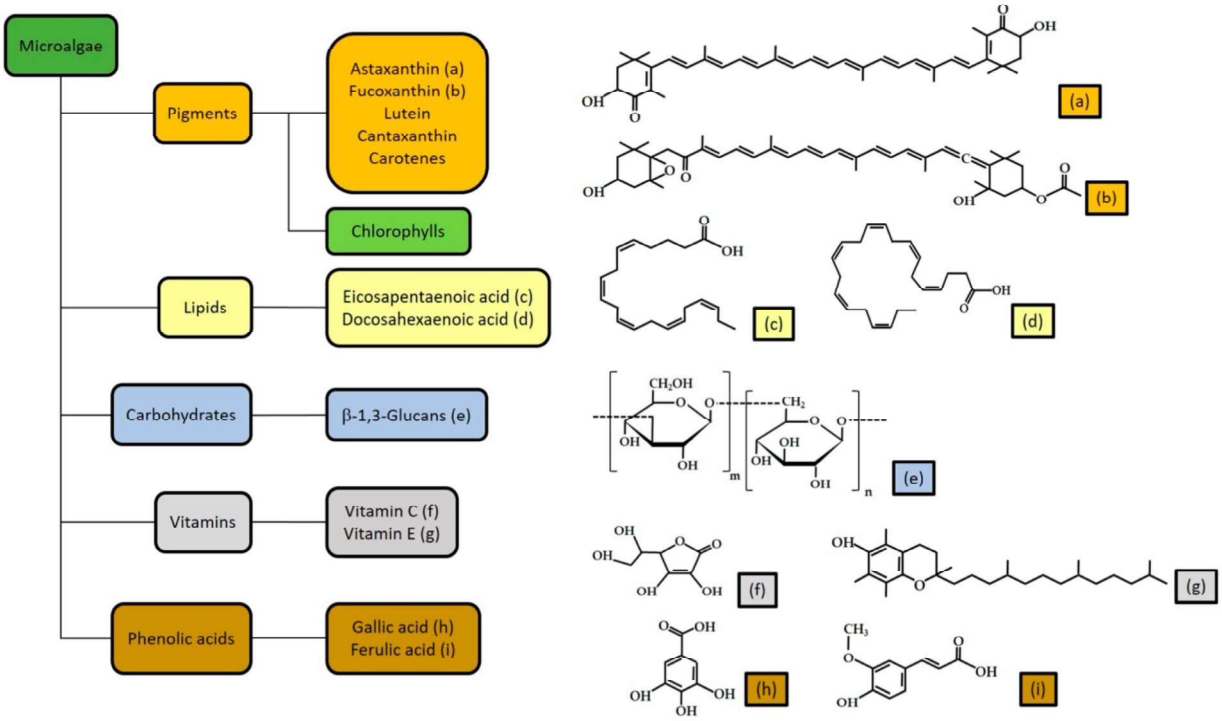


Figure 1. Microalgal bioactive molecules [15,16].

2.1. Pigments

Microalgae produce a wide variety of pigments, such as chlorophylls, carotenoids and flavonoids. Among the microalgae, *Botryococcus braunii*, *Chlorella* sps. *Chlorococcum* sp., *Coelastrella striolata*, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina*, *Nanochloropsis* sps., *Scenedesmus* sps., *Spirulina platensis* and some diatoms are known to produce β-carotene (β-Car), lutein, canthaxanthin, astaxanthin (Asx) and fucoxanthin (Fcx) [17].

Microalgae are the most promising sources of natural carotenoids. Carotenoids are fat-soluble molecules that constitute a class of terpenoid pigments, derived from a 40-carbon polyene chain, which can be considered their molecular backbone. Carotenoids are divided into carotenes and xanthophylls. They are mainly present in the pigment–protein complexes within the membrane of thylakoids, but some microalgal species can also accumulate carotenoids (β-Car and Asx) in lipid globules located in the stroma of the chloroplast or in the cytoplasm [18]. Among different microalgae, the total carotenoid content ranges from 3.04 $mg \cdot g^{-1}$ dry weight (DW) for *Scenedesmus almeriemis*, to 35 $mg \cdot g^{-1}$ DW for the hypersaline species *Dunaliella salina* [19]. The carotenoids of *Dunaliella salina* are mainly represented by β-Car (98.58% of total carotenoids) [19]. Under optimized culture conditions, the green microalga, *Asterarcys quadricellulare*, was shown to produce 47.0, 28.7, 15.5 and 14.0 µg of β-Car, lutein, Asx and canthaxanthin mg^{-1} of dry biomass, respectively [20].

In diatoms, Fcx is one of the main pigments present in chloroplasts. Its production varies from 0.82 $mg \cdot g^{-1}$ DW for *Phaedactylum tricornutum* to 26.6 $mg \cdot g^{-1}$ DW for the microalga *Mallomonas* sp. [21]. The Fcx content depends on microalgal species, the culture conditions and the extraction process. In the review by Khaw, the Fcx content is described to vary between species and within species. Indeed, in the microalga *Isochrysis galbana*, the Fcx content varies between 0.22 and 1.82% of the DW [22]. Conversely, some microalgal species produce very low amounts of Fcx, such as *Phaeodactylum tricornutum* (0.01% DW) and *Skeletonema costatum* (0.04% DW). In the different species studied, the highest Fcx content after optimization of the culture conditions was found in *Tisochrysis lutea*, with a percentage of 7.94% DW [22].

In the literature, Asx is described as the pigment with the highest antioxidant activity. *Haematococcus lacustris* (*Chlorophyceae*) is the main source of Asx, accumulating up to 7%

of its DW [23]. Although *H. lacustris* is able to accumulate a significant amount of Asx, it has been shown that in the green alga, *Chlorella zofingiensis*, the Asx content can reach 6.8 $mg \cdot g^{-1}$ DW under stress conditions (high light, nitrogen deprivation and salinity stress) [24].

2.2. Vitamins

Microalgae are also a source of vitamins, such as vitamins C and E.

In microalgae, ascorbic acid, or vitamin C, is mainly present in the cytosol and chloroplasts. The vitamin C content varies from 0.06 $mg \cdot g^{-1}$ DW for the genus *Skeletonema*, to 18.79 $mg \cdot g^{-1}$ DW for the genus *Chaetoceros*. For the same genus, there is a great variability in the vitamin content. For example, for the microalga *Chaetoceros*, the ascorbic acid content varies from 0.12 to 18.79 $mg \cdot g^{-1}$ DW [25].

In the literature, few publications report the tocopherol (TOC) composition of microalgae. TOC or vitamin E is a liposoluble antioxidant only synthesized by photosynthetic organisms and is located in the membrane lipid bilayers, mainly in those of chloroplasts. Vitamin E is present in microalgae such as *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans* and *Porphyridium cruentum*. The total TOC content varies greatly between species, with the highest amount found in *Tetraselmis* sp. (6320 $\mu g \cdot g^{-1}$ DW) and the lowest in *Phaeodactylum tricornutum* (13.12 $\mu g \cdot g^{-1}$ DW) [26].

2.3. Polysaccharides

Polysaccharides are polymers made up of osidic units linked by glycosidic bonds. Microalgae are shown to contain several polysaccharides with antioxidant activity. However, this activity remains rather weak.

Beta-1,3-glucans, also named laminarin, chrysolaminarin or mycolaminarin, depending on the algal species, are one of the most abundant polysaccharides in microalgae [27]. They are involved in carbon storage and constitute the structural components of the cell walls of these organisms. The flagellate alga, *Poterioochromonas malhamensis*, is a potential source of β-1,3 glucan. This polysaccharide content makes up to 55% of its biomass [28]. In 2016, Schultze et al. studied the composition of metabolites, and in particular β-glucans, in 47 microalgae [29]. Under standard culture conditions, the β-glucan content varies from 1.7% to 24.8% of DW. *Phaeodactylum tricornutum* and *Mesotaenium caldariorum* have a very low content (1.7% DW), while *Scenedesmus ovalternus* has the highest accumulation of β-glucans, with 24.8% of the DW.

In diatoms, chrysolaminarin, composed of β-1,3-glucan with β-1,6-branched chains, is the main form of polysaccharide storage. This polysaccharide is present at high levels in diatoms such as *Odontella aurita* (up to 63% DW), *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* (up to 23% DW) [30].

2.4. Phenolic Compounds

Phenolic compounds constitute a large family of antioxidant molecules present in higher plants, macroalgae, and more recently studied in microalgae. Approximately 8000 structures of phenolic compounds have been identified. All contain one or more aromatic rings with one or more hydroxyl substituents. Various studies have been carried out on the total phenol content of different microalgal strains and in different geographical locations. A recent study by Almendinger et al. (2021) showed that two microalgal species, *Neochloris oleobundans* and *Wilmottia murravi*, contain high levels of phenolic compounds (>20 mg gallic acid $eq \cdot g^{-1}$), out of the 13 microalgae studied [31]. In a study of Leon-Vaz et al. (2023), 19 species of nordic microalgae were cultivated in standard conditions and under high light and cold stress conditions to explore their ability to produce bioactive compounds such as polyphenols [32]. The strains *Chlorococcum* sp. and *Scenedesmus* sp. produced higher concentrations of phenolic compounds during stress. The green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, was able to increase the production of polyphenols during a high light exposure [33]. Anwer et al. (2022) determined the total phenol content from

several microalgal species using different types of extraction. They found that *Spirulina* sp. contained more total phenolic compounds than the other species [34]. Trentin et al. (2022) showed that two microalgae, a naviculoid diatom and a green microalga (*Tetraselmis marina*), are rich in polyphenolic compounds. Thus, all these microalgae can be considered good candidates to serve as sources of these high-value compounds [35].

2.5. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids

Microalgal lipids are characterized by a large diversity of fatty acid profiles. Several studies on the microalgal fatty acid composition of lipids have revealed the presence of large amounts of LC-PUFAs. LC-PUFAs belong to the omega-3 series (ω3-PUFA). This is the case for docosahexaenoic acid (C22:6 ω3, DHA) and eicosapentaenoic acid (C20:5 ω3, EPA), of which the beneficial effects on health are now widely recognized.

Among the microalgae producing ω3-PUFAs, a distinction can be made between those synthesizing only EPA or DHA, and those synthesizing EPA and DHA, in proportions that vary according to the species and the culture conditions (culture regimen, temperature, salinity, light, pH and nutrients). The lipids of bacillariophytes (or diatoms) are characterized by high levels of EPA and low or even zero levels of DHA [36]. A recent study carried out a screening of new strains of microalgae producing bioactive substances, and highlighted the particular interest of diatoms as EPA-producing organisms. Of the nine selected species, *Thalassiosira weissflogi* had the highest proportion of EPA (21.4% of total fatty acids) and an absence of DHA [37]. DHA is specific to dinoflagellate and haptophyte lipids. Dinophytes can produce large amounts of DHA, with up to 40% of total fatty acids in some taxa. In haptophytes, DHA production can reach 30% of total fatty acids [36]. Specifically, *Crypthecodinium cohnii*, a heterotrophic dinoflagellate, is able to produce DHA at high levels (up to 50% of DW), while EPA is totally absent [38].

3. Muscular Mitochondrial Function and Oxidative Stress during Exercise

3.1. Muscular Protein Balance

Muscle quality and mass are mainly regulated by a balance between protein synthesis and degradation. The protein pool is maintained by a fine balance between muscle protein synthesis (MPS) and muscle protein breakdown (MPB). These processes respond to nutrients and contractile activity actions affecting physical performance, injury prevalence and disease [39–41].

3.1.1. Muscle Protein Synthesis

One of the characterized regulators of muscle protein translation is the mammalian target of rapamycin (mTOR) [42]. There are two complexes of mTOR: mTORC1 and mTORC2, but only the former is involved in MPS [43]. MPS is regulated by IGF1 (insulin-like growth factor 1)/PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/Akt (protein kinase B)/mTOR pathways, with mTORC1 being able to control protein translation [44,45]. The target of mTORC1 results in the regulation of the level of phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4E-BP1) protein. This factor is a repressor of eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E). The target of mTORC1 also results in the phosphorylation of ribosomal protein S6 kinase beta-1 (p70S6K), which in turn leads to the activation of eukaryotic translation initiation factor 4B (EIF4B). Moreover, p70S6K activates the ribosome biogenesis and an over-time translation through eukaryotic elongation factor-2 kinase (EEF2K), which also contributes to the activation of MPS [46,47]. In healthy people, MPS is constant, negatively regulated by AMP-activated protein kinase (AMPK) during exercise and positively after exercise [48]. In contrast, during muscle disease associated with mitochondrial dysfunction, AMPK suppresses the MPS via an inhibition of mTORC1 [49].

3.1.2. Muscle Protein Breakdown

In opposition to MPS, MPB is activated during exercise. There are two major types of MPB: autophagy and the ubiquitin proteasome system (UPS).

Autophagy is a breakdown system of proteins, energy substrates, mitochondria and other organelles [50,51]. It plays an important role in muscle homeostasis when mitochondria or misfolded proteins are not eliminated. This process leads to a disorganization of the sarcomere and induces muscle atrophy [52]. Autophagy follows four steps: induction, nucleation, elongation and substrate isolation, and fusion with lysosomes [53]. Its activation is associated with a variety of stress factors such as OS, hypoxia or protein aggregation. The pre-autophagosome formation is controlled by the protein complexes ULK-ATG13 and 101-Fip200 [53,54]. Moreover, mTORC1 is a key regulator of autophagy through the direct phosphorylation of ULK [55]. Then, the fusion of lysosomes with autophagosome degrades its content and releases amino acids [56].

The UPS targets the proteins contained in the mitochondria, cytosol, nucleus and endoplasmic reticulum [57]. The UPS is an ATP-dependent non-lysosomal protein degradation mechanism in cells [53]. There are three types of ubiquitin enzymes: E1 (ubiquitin activating enzyme), E2 (ubiquitin conjugating enzyme) and E3 (ubiquitin ligase), that transfers the protein to the autophagosome [58].

3.2. Mitochondrial Function and RONS Production

Mitochondria are cell organelles known to be involved in muscle physiology, their activity being modified during muscle damages due to pathologies or physiological modifications.

Besides the role of muscle mitochondria in ATP synthesis and oxidation of numerous substrates, mitochondria are involved in other mechanisms, such as apoptosis induction [59–61], free radical production [62,63], calcium homeostasis [64] or thermogenesis regulation [65]. According to muscle physiology, the production of ATP can be provided through two mechanisms: the anaerobic glycolysis and the oxidative phosphorylation. The oxidation of substrates by the oxidative phosphorylation pathway is a key factor for muscles during endurance training [66–68], with an increase in superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) content in contracting muscle fibers [67,69]. The RONS are composed of the reactive oxygen species (ROS), among which $O_2^{\cdot -}$ is produced by oxidase xanthine [70], nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase and mitochondria [71], or the hydrogen peroxide (H_2O_2) that is produced by reaction between $O_2^{\cdot -}$ and the mitochondrial superoxide dismutase 2 (Mn-SOD) [72,73]. H_2O_2 is able to cross membranes and act on cell proteins. In response to the increased RONS level in cells, an enzymatic cascade involving peroxidase glutathione (GPx), catalase (CAT) and peroxidase thioredoxin (TPx) will convert H_2O_2 into H_2O or a hydroxyl group (OH^-) that is able to oxidize DNA, lipids and proteins [72,73] (Figure 2). Among the RONS, there are also reactive nitric species (RNS). In physiological conditions, they have an important role in skeletal muscle signaling [74]. Nitric oxide (NO) is mainly produced via the oxidation of the amino acid L-arginine, in a highly controlled process requiring oxygen, NADPH and other cofactors. This reaction is catalyzed by specialized nitric oxide synthases (NOSs), of which the activities depend on the intracellular calcium level [75]. The role of NO is to maintain glucose uptake, vascular perfusion during contraction, mitochondrial function and the excitation–contraction coupling. Thus, muscle diseases associated with mitochondrial dysfunction generate proinflammatory conditions resulting in inducible NOS (iNOS) activation and an overproduction of NO. Then, NO and $O_2^{\cdot -}$ produce peroxynitrite ($ONOO^-$) and nitrogen species [75].

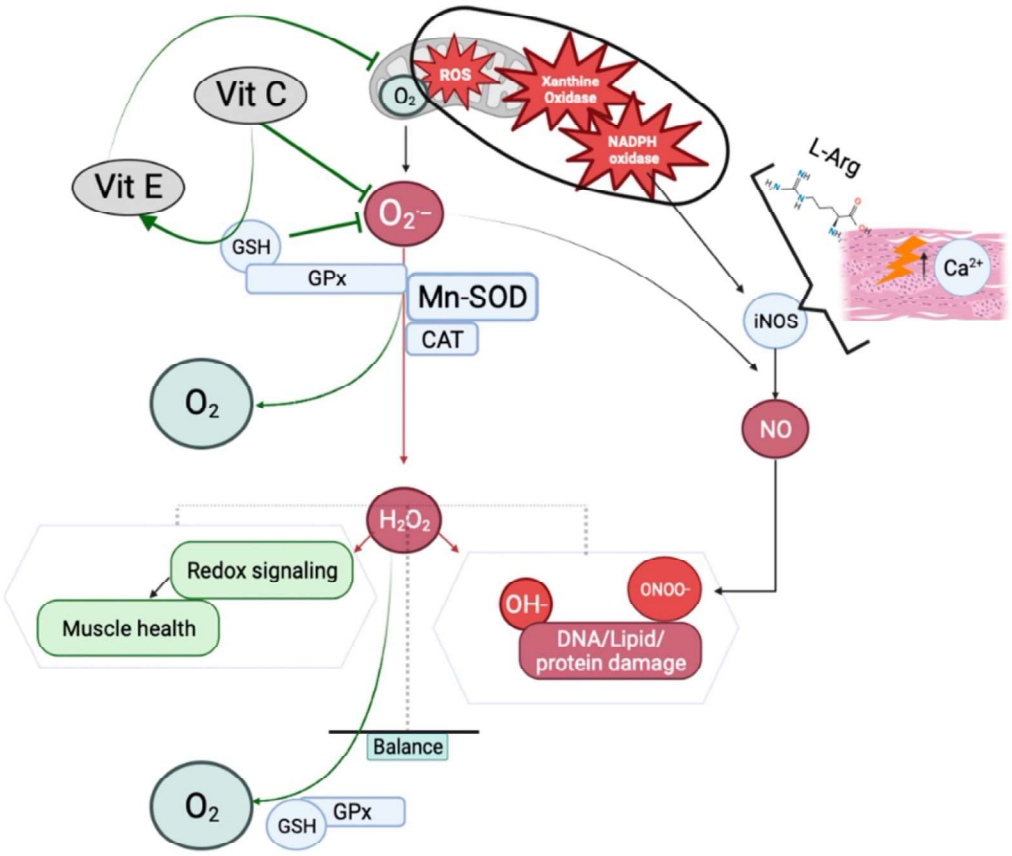


Figure 2. RONS production and cellular fate. The mitochondrial function produces superoxide anion $O_2^{\cdot-}$, which is transformed into H_2O_2 due to the antioxidant enzymes Mn-SOD, CAT and GPx. Muscular damage, oxidation of L-arginine (L-Arg) and increased calcium level (↑) activates iNOS and the production of NO. An overproduction of H_2O_2 or the action of $O_2^{\cdot-}$ with NO will induce OS through OH^- and $ONOO^-$, respectively, resulting in DNA, lipid and protein damage. Contrarily, a controlled H_2O_2 level will be in favor of muscle health. Non-enzymatic antioxidants such as vitamins C and E inhibit the production of $O_2^{\cdot-}$, and thus also limit the oxidant stress. Created using Biorender.com (accessed on 28 April 2023).

3.3. Inflammation Pathways Due to the RONS

Exhaustive exercise produces proinflammatory cytokines involved in the transcriptional regulation of redox signaling, through the activation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) and nuclear factor-kappa B (NF-κB) signaling pathways [76]. Exercises increase the release of muscle interleukin (IL)-6, which can negatively regulate the tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and stimulate IL-10 secretion, two mechanisms resulting in macrophage M2 activity improvement, that increases the anti-inflammatory response [77]. During low systemic conditions, it has been shown that exercise exerts an anti-inflammatory effect and prevents chronic disease associated with OS, mitochondria dysfunction and protein imbalance [78,79].

In inflammation-associated muscle diseases, it is reported that NF-κB/TNF-α/IL-6 pathways induce an increase in the proinflammatory macrophage M1, which results in muscle atrophy [80,81]. The RONS production is autoregulated by NF-κB and TNF-α [81,82]. The factor Nrf2 is a negative regulator of NF-κB, which can reduce inflammation during exercise, and for which a stimulation occurs following RONS production [83].

3.4. Antioxidant Responses to RONS Production

During physical activities, the overproduction of ROS induces damage to skeletal muscle, but this production can be regulated by the antioxidant defense system. The use

of antioxidant supplements, such as vitamins E and C, can also be used to prevent ROS damage. The use of these vitamins and other compounds, such as resveratrol and coenzyme Q10, has been reported to have several effects on skeletal muscle during adaptations to training, inflammation or muscle damage [84].

To optimize RONS production, two possibilities have been reported in the scientific literature: the identification of an antioxidant mix with defined concentrations [85,86] and the use of a new form of antioxidant, also named secondary antioxidant, which interact with antioxidant response elements (AREs) of genes rather than activating RONS scavengers. Among them, resveratrol showed a positive role in AREs during physical activity [87,88], and ergothioneine, a sulfated derivate of histidine, was shown to stimulate the gene Nrf2, an important regulator of the ARE [89]. Ergothioneine is the only sulfur-derivate of histidine to be reported to have any effect on muscle, but it can be noticed that ovothiols, other derivates of histidine produced by microalgae [90,91] have also been reported to regulate Nrf2 into keratinocytes, inducing a dermo-protective effect [92].

The antioxidant activity can be carried out by non-enzymatic molecules, such as vitamins C and E, or by enzymes [93]. When considering enzymes, the SOD family is able to neutralize $O_2^{\cdot -}$. The cytosolic SOD activity is around 65–85% of the total cell SOD activity, while in mitochondria, it is around 15–35% [70]. Moreover, the SOD activity is higher in type 1 fiber (slow twitch) than in type 2 (fast twitch) [94]. This mechanism cannot be completed without a synergy with CAT and GPx that converts reduced glutathione (GSH) into oxidized glutathione (GSSG). The levels of GSH are higher in type 1 fiber than in type 2 [95]. The GSH–GSSG ratio is a marker of OS, in relation to the increase in H_2O_2 [96,97] (Figure 2).

Vitamin C is an important antioxidant compound because it rapidly gives its electron and prevents the overproduction of RONS [98]. Vitamin E or TOC, including α-TOC, is the second most consumed vitamin. Its metabolism is regulated by the liver and this vitamin has a strong antioxidant activity [99]. However, studies report that long-term vitamin E supplementation may increase the risk of heart failure in patients with vascular disease or diabetes mellitus [100].

3.5. Muscular Redox Balance and Mitochondrial Adaptation

High intensity exercise causes damage in muscles, which is repaired by protein turnover. However, exercise also generates OS and inflammation that have to be managed [10]. Numerous athletes use antioxidant supplementation to counteract the overproduction of RONS and inflammation during exercise [101]. However, antioxidant supplementation must be carefully used due to the role of RONS in muscle adaptation [85]. During aerobic exercise, RONS is able to stimulate peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator (PGC1-α) with, as a consequence, an improvement in mitochondrial biogenesis and muscle adaptation [102]. In the Merry and Ristow review, it is explained that high levels of vitamins C and E prevented the activation of PGC1-α, limiting muscle adaptation and maximal oxygen consumption during aerobic exercise [103]. The same observations have been made during resistance exercise. Indeed, after 10-week strength training protocol in women, the gains in peak torque and total work were lower in the group with vitamin C and E supplementation than in the control group [104].

4. Muscular Diseases and Overproduction of RONS

Without being exhaustive, the most important pathologies reported in the literature and correlated with an important RONS production are sarcopenia, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and Duchenne muscular dystrophy (DMD). The OS conducts muscle atrophy with drastic consequences to human life. The aim of this section is to describe the mechanisms that result from OS and the need for antioxidants to prevent or improve the wellness of affected persons.

4.1. Sarcopenia

During ageing, a general muscle deconditioning, named sarcopenia, occurs. This syndrome is characterized by a progressive and general loss of skeletal muscle mass and strength, with a risk of adverse outcomes such as physical disability, poor quality of life and death [105]. Inactivity is the most common cause. In fact, from 50 years of age onward, muscle mass decreases by 1–2%/year and strength by 1.5–5%/year [106]. Moreover, ageing decreases the amount of type 2 muscle fibers, resulting in a dominance of type 1 muscle fiber and a higher mitochondrial activity [107].

Two stages of sarcopenia are identified: due to age or ageing and when associated with disease or disability. In both stages, the cross-sectional area of each fiber decreases as a consequence of a imbalance in protein turnover [108] and an exacerbation of myonuclear apoptosis [109]. These two phenomena can result from increased ROS production [110] and decreased antioxidant systems in skeletal muscle mitochondria [111]. Indeed, RONS can damage the protein structure [112]. Moreover, clinical and animal studies have shown an increase in protein carbonylation and lipid peroxidation [111,113]. In response to RONS production during sarcopenia, mitochondrial Mn-SOD and GPx activities increase to regulate H_2O_2 and $O_2^{\cdot -}$ productions [114–116]. In the study of Shenton et al. (2006), the low levels of H_2O_2 appear to stimulate protein synthesis, but when in excess, they altered the protein synthesis by mRNA blocking at the ribosome level [117]. In aortic smooth muscle cultured cells, it has been reported that H_2O_2 impaired the mTOR complex and blocked the phosphorylation of 4E-BP1 and p70S6K [118]. In aging rats, it has been reported that the decrease in IGF-1 and Akt phosphorylation can reduce mTOR [119]. Finally, an altered redox status improves inflammation and protein degradation, with an increase in TNF-α, muscle ring finger-1 (MuRF-1), muscle atrophy F-box (atrogin-1) and proteasome activity [119,120].

4.2. Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Smoking has been shown to be the first cause of COPD. Respiratory obstruction results in a decrease in oxygen transport in peripheral muscles [121]. It appears that the lower limb muscles are more affected by this oxygen depletion [122]. Moreover, previous studies have shown a decrease in strength and endurance, and severe muscle fatigue [123,124]. All these findings are partly responsible for a muscular atrophy [125], with a decrease in type 1 fibers and an increase in type 2 fibers [126].

From a bioenergetic point of view, mitochondrial density is decreased and glycolytic metabolism seems to be more stimulated in quadriceps muscle [127,128]. Concerning MPB, an increased level of atrogin-1 has been reported, but the literature is controversial about the increase in the expression of MuRF-1 and LC3B (microtubule associated protein 1 light chain 3 beta) levels [125,129]. In the IGF1/PI3K/Akt/mTOR pathways, the increase in IGF-1 and Akt associated with an increased expression of 4E-BP1, a target of mTOR, resulted in an inhibition of MPS [130,131]. Finally, in COPD, H_2O_2 and $O_2^{\cdot -}$ levels are increased in blood circulation, but also in skeletal muscle. Moreover, as mitochondria are considered the first source of H_2O_2 production in COPD patients by comparison with healthy persons, exercise has been reported to improve OS, particularly in the Complex III of respiratory chain [132,133].

Several studies have demonstrated an increase in antioxidant enzymes such as SOD, to compensate for the redox imbalance [134]. Here, as in sarcopenia, the relation between ROS and muscle atrophy is well established [135]. Indeed, an increased ROS level is known to stimulate proteolysis through the UPS, autophagy or calpain/caspase pathways [136].

4.3. Duchenne Muscular Dystrophy

DMD is a genetic disorder characterized by progressive muscle degeneration and weakness due to dystrophin alterations. Opposingly to other muscle pathologies, DMD is diagnosed during childhood, usually between 4 and 5 years of age [137,138]. This disease mostly affects boys (1 in 3500–6000 boys), but in rare cases, it can also affect girls.

Indeed, X-chromosome-linked muscle disease is caused by dystrophin gene mutations [139]. Dystrophin binds the cell membrane to the actin filament. The lack of dystrophin leads to mechanical fragility and damage during muscle contraction [140].

To improve the therapy approach, several studies are conducted to develop natural antioxidant and anti-inflammatory molecule treatments. Indeed, DMD reflects the primary feature of myonecrosis associated with inflammation and OS [141]. During DMD, OS has a particular effect on protein damage and thiol oxidation, as demonstrated in mice [142]. The production of ROS occurs during myonecrosis after membrane disruption, or during activities of NAD(P)H oxidase, xanthine oxidase and the decoupling of NOSs [143]. DMD patients suffer from ischemia, impaired vasodilatation and a loss of NOS sarcolemma associated with an increase in ROS, which trigger calcium entry into mitochondria [144].

The pathologies described in this section are characterized by OS, leading to muscle atrophy and damage, the main mechanisms and signaling pathways which are reported in Figure 3.

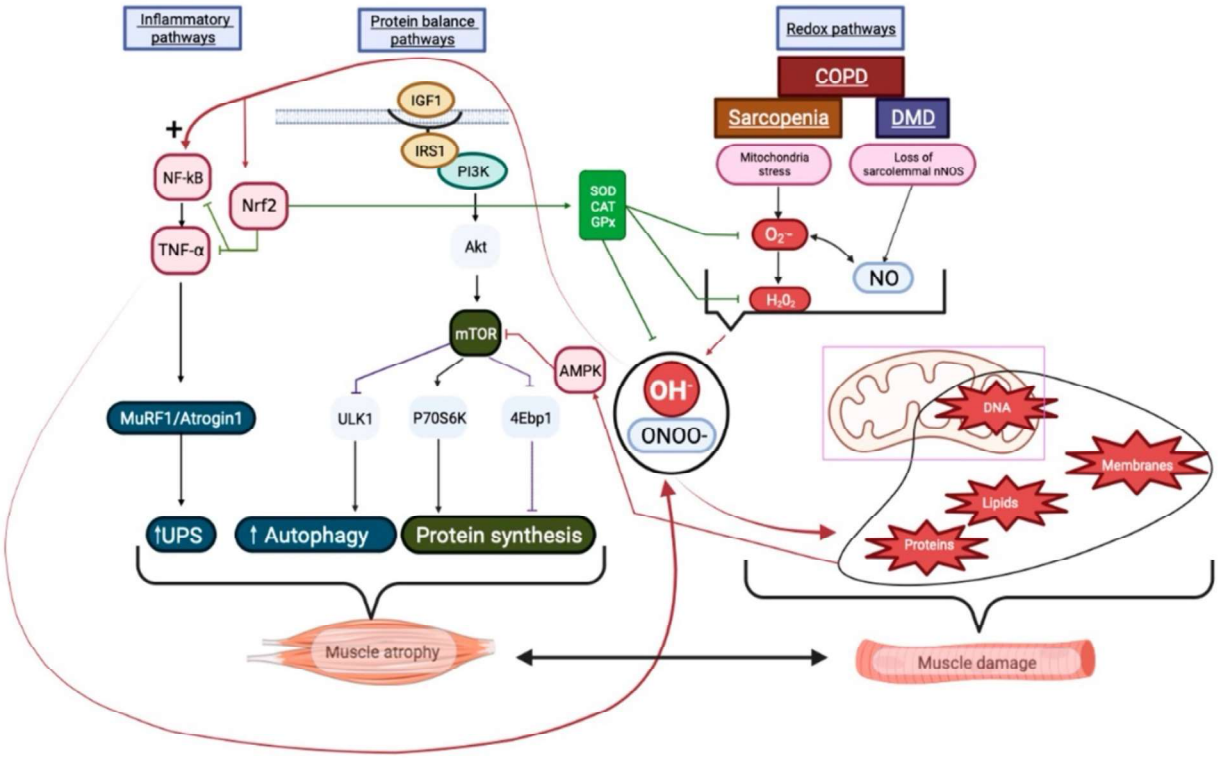


Figure 3. The roles of RONSs during skeletal muscle pathologies. Redox pathways in COPD, DMD and sarcopenia, mitochondria dysfunction and sarcomere NO leakage produce OS, which causes muscle damage leading to muscle atrophy. Protein balance pathways: the IGF1/PI3K/Akt/mTOR protein synthesis pathway is impacted by OS. Mitochondrial dysfunction due to the RONS active, AMPK, inhibiting mTOR and leading to rapid atrophy. Inflammatory pathways: inflammation is increased by OS via (+) NF-κB and TNF-α, activating UPS and resulting in muscle atrophy. In addition, OS triggers the release of antioxidant enzymes via Nrf2; however, SOD, CAT and GPx are insufficient to compensate for the overproduction of OH^- and $ONOO^-$. According to the roles played by RONSs and their consequences, the described pathologies support OS-induced muscle atrophy and damage. Created using Biorender.com (accessed on 28 April 2023).

5. Preventive Effects of Microalgal Biomasses and Their Bioactive Molecules in Muscle Oxidative Stress and Mitochondrial Functions

5.1. Microalgal Biomass

Two main animal models, rodents and fishes, have been studied to test the use of microalgal biomasses in muscle OS and mitochondrial functions.

The use of *Chlorella vulgaris* as a food supplement (150 and 300 $mg \cdot kg^{-1}$ for three months) in young and old rats has been shown to improve muscle mass, strength and function, which is explained by its potency to improve the OS management in skeletal muscles [145]. Another study investigating oxidative damage and metabolic changes induced by acute exercise in rats (6 h swimming) showed that a ten-day dietary supplementation with *Galdieria sulphuraria* (10 $g \cdot kg^{-1}$) reduced exercise-linked oxidative damage and mitochondrial dysfunction. Indeed, an increase in mitochondrial release rate of H_2O_2, and the liver and heart antioxidant enzyme activities have been observed. Moreover, a reduction in lipid oxidative damage was observed. These effects were proposed to be due to the high content of C-phycocyanin and glutathione in *Galdieria sulphuraria*, which are able to scavenge peroxyl radicals and contribute to phospholipid hydroperoxide metabolism, respectively [146]. In trained rats (high-intensity exercise for eight weeks), a dietary supplementation with *Spirulina platensis* (500 $mg \cdot kg^{-1}$) improved the antioxidant capacity, as well as reduced muscle damage and inflammation (C-reactive protein) [147]. Previously, these authors also showed that supplementation with *Spirulina platensis* (500 $mg \cdot kg^{-1} \cdot day^{-1}$) for eight weeks induced a significant improvement in exercise performance (time of execution), along with a significant decrease in muscle damage [147]. Using the seaweed of *Gracilaria asiatica* for supplementation (250 $mg \cdot kg^{-1}$ during 10 weeks) in OS induced by high-intensity resistance exercise, it has been reported that dietary fiber-rich algae could be a potential nutritional supplement to boost performance and prevent exercise-induced muscle damage through enhanced maximal carrying strength. The OS was reduced due to an increase in antioxidant status (SOD activity and GSH content), associated with a decrease in lipid peroxidation [148].

Fish (common carp) fed with 5% or 10% (*w*/*w*) *Chlorella vulgaris* biomass (rich in carotenoids as lutein) for 6 weeks, followed by daily treatment with chloramine-T (at concentration of 10 $mg \cdot L^{-1}$ for 1 hr in three consecutive days), showed increased GPx and CAT activities in muscles when compared to the control [149]. In another fish model, it was shown that feeding *Nile tilapia* with a microalgal mix containing *Nannochloropsis oculata*, *Schizochytrium* sp. and *Spirulina* sp. for 12 weeks was able to improve the oxidative status in muscles, characterized by a significant reduction in ROS, H_2O_2 and malondialdehyde (MDA) contents associated with the upregulation of GSH, GPx, CAT and SOD genes [150]. Supplementation with the microalgal strain, *Ascochloris* spp., in juvenile *Clarias gariepinus* fish, for an experimental period of 100 days, showed significantly higher glutathione S-transferase, CAT, SOD and lipid peroxidase activities in muscles [151]. Finally, catfish (*Rhamdia quelen*) supplemented for 60 days with 3% residual algal biomasses from *Acutodesmus obliquus*, a microalga rich in carotenoids and chlorophylls, increased muscle SOD activity, suggesting the potential antioxidant effect of pigments of *Acutodesmus obliquus* in improving the organism health status [152].

According to the reported data, microalgal biomasses have shown positive effects on the muscle redox status. This potential balance of the redox status produced by microalgae could have a major impact on muscle waste due to ageing, but also in COPD patients. Moreover, in DMD patients, the inflammation and NO leakage generated by muscle fiber necrosis or important fibrosis could be reduced by microalgal molecules. Supplementation with one of the microalgae could be interesting for recovery after a traumatic exercise session, and to observe the potential effects on muscle remodeling.

5.2. Carotenoids

The two main carotenoids present in microalgae are Fcx and Asx. Fcx has been reported to promote glucose uptake by skeletal muscle through the translocation of the glucose transporter, GLUT4, to membranes [153], but with different effects, depending on the muscle type [154,155]. In mice, the use of Fcx increased the weight of the tibialis anterior and gastrocnemius muscles, and decreases the OS in the tibialis anterior muscle through the phosphorylation of mTOR and suppression of the AMPK pathway [156,157].

When considering Asx, another xanthophyll well known for its beneficial effects on human health produced by the green alga, *Haematococcus pluvialis*, its potent antioxidant activity acts in the phospholipid bilayer membranes.

These beneficial effects of Asx and Fcx are related to their specific chemical strutures. Indeed, they are two oxycarotenoids, containing oxygen atoms and exhibiting a polyen chain with a conjugated carbonyl, an epoxide and hydroxyl groups on each end-cycle (Figure 1). This structure determines their potential biological functions and actions. Indeed, the central chain, including a system of conjugated double bonds, may carry cyclic end-groups, which can be substituted with oxygen-containing functional groups. This specific structure confers an effective reactive oxygen quencher role to Asx and Fcx, forming radical cations converted into stable compounds due to the electron transfer from vitamin E [15,158].

Used as food supplements during exercise experiments, the effect of Asx on ROS-targeted proteins has been shown in mouse skeletal muscles. Specifically, Asx was able to reduce the modification of carnitine palmitoyltransferase 1 induced by OS [159]. During exercise, Asx has been reported to increase mitochondria glutathione levels and limit OS in rat soleus muscles [160]. During long-term immobilization, feeding rats with Asx for 2 weeks induced an attenuation in atrophy of soleus muscle and suppressed myonuclear apoptosis [161]. Under these conditions, a decreased production of ROS and SOD-1, with an increased expression of vascular endothelial growth factor, were observed [162]. In a muscle-atrophied mouse model [163], Asx, used as a food supplement, has been reported to prevent muscle weight loss, with a decrease in myofiber size. In the soleus muscle, the authors observed a slight increase in H_2O_2. The upregulation of AMPK and peroxisome proliferators (PPAR-γ) favored mitochondrial biogenesis. In myotubes obtained from the soleus muscle, it has been shown that Asx was preferentially present in mitochondria and its effect suppressed ROS production.

Studies conducted in humans have revealed that four weeks of treatment with Asx were not enough to decrease the rate of lipid and carbohydrate oxidation during exercise [164]. In another study, Asx, provided through a *Haematococcus pluvialis* extract, was not reported to have any effect after 3 weeks of treatment on the markers of skeletal muscle injury, such as muscle soreness, creatine kinase activity and muscle performance [165].

It can be concluded that Asx and Fcx have shown their strong antioxidant effect on muscle, and specifically mitochondria. As in the cases of DMD, sarcopenic and COPD patients, mitochondria dysfunction is responsible for a lack of energy, reducing physical capacities, whereby microalgal carotenoids could improve energy production. Moreover, these molecules could limit muscle atrophy through a direct effect on the phosphorylation of mTOR or their antioxidant activity. Finally, as Asx increases the expression of AMPK and PPAR-γ, it can promote muscle adaptations and mitochondrial biogenesis during pathological or healthy conditions.

5.3. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids

Although still elusive, the anabolic role of ω3-PUFAs on skeletal muscles is thought to be due to a reduction in proinflammatory cytokines and myosteatosis, an improvement in insulin sensitivity [166], MPS stimulation via the mTOR-p70S6K signaling pathway [167] and a decrease in mitochondrial ROS emission [168]. Muscle supplementation with ω3-PUFAs has been shown to increase their membrane phospholipid level related to the MPS and muscle loss prevention [169], that is linked to the preservation of adenosine diphosphate (ADP) sensitivity [170]. This is an important point, as ADP-stimulated oxidative phosphorylation reduces ROS production. Moreover, these preventive effects are also related to muscle mitochondrial functions, suggesting a close relation between the MPS and mitochondria bioenergetics [171] through the increased mRNA expression of transcription factors, such as PCG1-α, mitochondrial transcription factor A (TFAM) and Nrf1 [172], and the activation of AMPK [173]. As ω3-PUFAs are able to attenuate the generation of oxidative stress, their supplementation would improve muscle performance [174].

The effects of marine microalgae producing EPA and DHA, ω3-PUFAs well known to have benefits for human health, on mitochondrial functions and muscle pathologies will be described in the following section. Our review will focus on these molecules even through other ω3-PUFAs, such as docosapentaenoic acid (DPA, C22:5 ω3), which has been reported to have effects similar to EPA [175].

Clinical studies conducted in older men and women [176] have shown that dietary ω3-PUFA intake for 8 weeks (4 g/day) plays a role in muscle protein metabolism through an increased rate of MPS, as well as the protein kinase C and mTOR/p70S6K pathway activation. ω3-PUFA supplementation also increased muscle mass, strength and function in older adults, which may be in part transcriptionally regulated by the increased expression of the uncoupling protein 3 (UCP-3) and ubiquinol cytochrome-C reductase core protein 1 genes, involved in the regulation of mitochondrial functions. In opposition, pathways related to calpain-3 and ubiquitin-mediated proteolysis, and inhibition of the key anabolic regulator, mTOR, were reduced by ω3-PUFA supplementation [177]. Through reported observational studies and randomized controlled trials [168], muscle mass and physical activity have been associated with ω3-PUFA supplementation [178]. In sarcopenia, it has been recently proposed that ω3-PUFAs may be used for the prevention or treatment of this musculoskeletal disease [179]. However, the beneficial effects of ω3-PUFAs would depend on the dose used. Indeed, low daily doses of ω3-PUFAs (EPA and DHA, 0.225 g and 0.8 g, respectively) are not enough to have any effect on muscle mass, muscle strength and physical function in elderly people [180], in comparison with doses higher than 1 g of EPA and DHA [181]. The duration of dietary supplementation with ω3-PUFAs is also important, given that EPA and DHA supplementation for three to six months was enough to improve handgrip strength and muscle volume in the elderly population [181], while no change in results was observed after only three months of treatment [182]. In DMD, the intake of ω3-PUFAs as a dietary food supplement has been reported to increase MPS and decrease the inflammation cascade [183,184]. An explanation for an increased MPS by ω3-PUFAs is their role in the activation of the mTORC1/p70S6K1 signaling pathway and the downregulation of proteasome expression, leading to MPB suppression [185].

In rodent models, fish oil has been shown to reduce the decrease in the soleus muscle weight in the high fat (HF)-diet-fed group. During treatment, the expression of forkhead box O3 (FOXO3) and atrogin-1 proteins was also improved. The authors concluded that fish oil containing ω3-PUFAs was able to improve not only lipid imbalance, with activation of AMPK phosphorylation and expression of PPAR-γ and PGC-1α, but also muscle metabolism during HF diet [186].

In vitro studies conducted on C2C12 myotubes revealed that DHA was able to increase superoxide production, with a suppression of SOD activity, while EPA induced CAT activity [187]. In the same cell line, after stimulation with L-leucine, it has been shown that after treatment with EPA, MPS was increased in parallel to a decreased MPB, and an increased FOXO3a phosphorylation. In this study, the authors also reported that EPA and DHA were able to increase the phosphorylation of p70S6K, a key role in skeletal muscle atrophy [188]. After a treatment with palmitic acid (PAL, C16:0), a condition that induces lipotoxicity in the C2C12 cell line, EPA, DHA and DPA were found to prevent the effect of PAL, by promoting cell viability and differentiation of myoblasts into myotubes, that could be explained by an inhibition of PAL-induced proinflammatory cytokine expression [189]. In this study, the specificity of DPA was highlighted. Indeed, DPA maintained cell viability potentially via mitigating the loss of mitochondrial membrane integrity induced by PAL [190]. Using lipopolysaccharides (LPS) as a pro-inflammatory agent on C2C12 myoblasts, the co-treatment with EPA and DHA blunted the expression of IL-6 and TNF-α [189]. As proposed in clinical studies, these effects appear to be mediated by a restoration of the Akt/mTOR/FOXO3 pathway involved in the muscle differentiation process, as well as by an inhibition of the proinflammatory transcription factors activating protein-1 and NF-κB [191,192].

ω3-PUFAs, through DHA, EPA and DPA, have shown protective effects against energy metabolism diseases, allowing for protection against the development of diabetes and obesity in addition to sarcopenia, COPD and DMD. On the other hand, the action of ω3-PUFAs improves muscle mass, strength and inflammation upkeeps, without having an antioxidant effect against RONS. The ω3-PUFAs extracted from microalgae could have an anti-inflammatory role and be protective against metabolic alterations, which, when coupled with other microalgal molecules, could give synergetic effects.

5.4. Vitamins

Vitamin C, or ascorbic acid, is part of an exogenous, water-soluble, non-enzymatic group of antioxidants. Its antioxidant properties depend on its presence in different cell compartments [193]. Vitamin C is a molecule that can be used to prevent sarcopenia [194]. In humans, it has been reported that it was able to reduce age-related muscle loss [195] or increase muscle mass. Inversely, deficiency leads to muscle atrophy and a decrease in physical performance [196]. However, the effects of vitamin C during exercise on mitochondrial function are debatable. Indeed, in healthy men, vitamin C administration has been shown to decrease the benefits of endurance training on PGC-1α, despite maintaining whole-body adaptations and performance measures [197]. Moreover, it is unclear whether vitamin C can act directly on superoxide anions due to its bioavailability after supplementation and its subcellular location [67]. The use of vitamin C at high doses did not exert any effect on several skeletal–muscle parameters, such as PGC-1α and TFAM of PGC-related factor [83], or it may converted into a pro-oxidant molecule, specifically when combined with iron or copper, resulting in a hydroxyl radical level increase [193].

Vitamin E is a fat-soluble non-enzymatic antioxidant found in all cell membranes, the most common form being α-TOC [198]. As a lipophilic antioxidant, it protects membranes from damage, participating in cell immunity, and modulates signal transduction and gene expression in a redox-dependent and redox-independent manner, regulating cell functions relevant to its action and the prevention of diseases, such as cancer, atherosclerosis, inflammation or neurodegenerative diseases [199]. As vitamin C and carotenoids, vitamin E may attenuate sarcopenia, due to its ability to mitigate age-associated skeletal dysfunction and enhance muscle regeneration by modulating MPS [200]. At high doses, vitamin E may also inhibit signaling pathways triggered by the generated OS during exercise training [201]. However, as reported in a previous review taking into account dietary intakes and plasma nutrient levels, the effects of vitamin E are debatable relating the preservation of muscle mass and physical performance in specific populations where sarcopenia may be present [202]. Moreover, vitamin E does not seem to have any effect on muscle strength production after chronic strength training. Thus, its supplementation cannot potentiate muscle growth [104].

Vitamins E and A are recognized for their antioxidant properties in many diseases, including sarcopenia. Regarding COPD and DMD, they should have similar effects to counteract RONS. Thus, these vitamins being the compounds found in microalgae could also support the potential beneficial effects of microalgae on muscle diseases. On the other hand, one must be careful not to exceed these vitamins, as a contribution from microalgae alone may be sufficient to obtain only the positive effects.

5.5. Other Antioxidant Molecules

- Polysaccharides

Laminarin, a β-1,3 glucan is extracted from seaweed and is known for its effects on inflammation and oxidation [203]. It is also a dual regulator of apoptosis and cell proliferation, with antioxidant activity occurring through three mechanisms, including ROS scavenging, regulation of the antioxidant system and oxidative-stress-mediated signaling pathways [204]. In rat L6 myotubes, it has been reported that laminarin was able to activate the AMPK/p38MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) pathways in skeletal muscles, resulting in a better production of ATP and glucose uptake [205]. In fish muscles,

β-glucans have been shown to decrease protein oxidation, lipid peroxidation and ROS levels. Specifically, β-glucans increased antioxidant enzyme activities, such as CAT, SOD or GPx, and decreased the expression of p66shc, a gene involved in the regulation of ROS levels [206]. In zebrafish, β-1,3 glucan from the alga *Poterioochromonas malhamensis* enhanced antioxidant capacity by reducing ROS contents [28]. In mice, polysaccharides (β-(1-3,4, and 6)-D-glucans) from the fungi *Ganoderma lucidum* [207] have been used to test their potential effects on the regulation of OS in skeletal muscles during swimming exercise. After 28 days of treatment, the polysaccharides increased the skeletal muscle activities of SOD, CAT and GPx, with a decrease in MDA levels, providing the downregulation of OS during exercise [208].

- Phenolic compounds

Very few studies have reported the effects of phenolic compounds on skeletal muscle physiology and mitochondrial functions. Among those produced by microalgae, gallic acid and ferulic acid can be mentioned.

Gallic acid is a benzoic acid that has been reported to prevent muscle decline due to ageing-associated oxidative stress. Low concentrations of gallic acid intake could delay skeletal muscle atrophy, as proposed in zebrafish embryos [209]. Studies conducted on C2C12 myotubes showed that gallic acid was associated with a significant increase in mitochondrial DNA and enzymatic activities, as well as an increase in mitochondrial turnover gene expression [210]. Gallic acid and gallate esters exert antioxidative properties with different mechanisms, such as ROS decrease and antioxidant enzyme activity increase [211]. Epigallocatechin gallate has been reported to upregulate PGC1-α expression in skeletal muscles, with an increased number of mitochondria. Moreover, it reduces the production of free radicals during exercise and inhibits the synthesis of slow-twitch muscle fibers, which prevent muscle damage [212].

Ferulic acid is a polyphenol widely known for its potential preventive effect on ageing or inflammation. During endurance exercise, administration of ferulic acid to mice for 12 days showed protection against the depletion of muscle enzymatic antioxidants, such as CAT, SOD and GPx [213]. In a cardiomyocyte OS cell model obtained after H_2O_2 treatment in mouse, ferulic acid protects the cardiomyocytes from OS [214]. In isolated rat psoas muscles, ferulic acid was able to increase GSH levels and SOD and CAT activities, in association with a decrease in NO levels [215]. To our knowledge, only one study has recently reported the effect of ferulic acid (trans, TFA) on skeletal muscle cells [216]. In this study, during hyperglycemia, TFA increased the activation of AMPK, and also increased the phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase, suggesting that it could promote fatty acid oxidation. Moreover, under these experimental conditions, TFA reduced ROS and NO productions.

These other molecules extracted from microalgae show antioxidant effects via SOD, CAT, GPx and GSH, which could promote the redox profile in sarcopenia, DMD and COPD. Moreover, an increase of AMPK, PGC1-α and p38MAPK could improve mitochondrial biogenesis and glucose utilization, which, associated with a good antioxidant capacity, would limit defective mitochondria, allowing a compensated ATP supply.

In this review, the reported data have shown that microalgae and their bioactive molecules were able to have potential effects on the mitochondrial function and OS on skeletal muscle. The specific effects described in this review are synthesized in Figure 4.

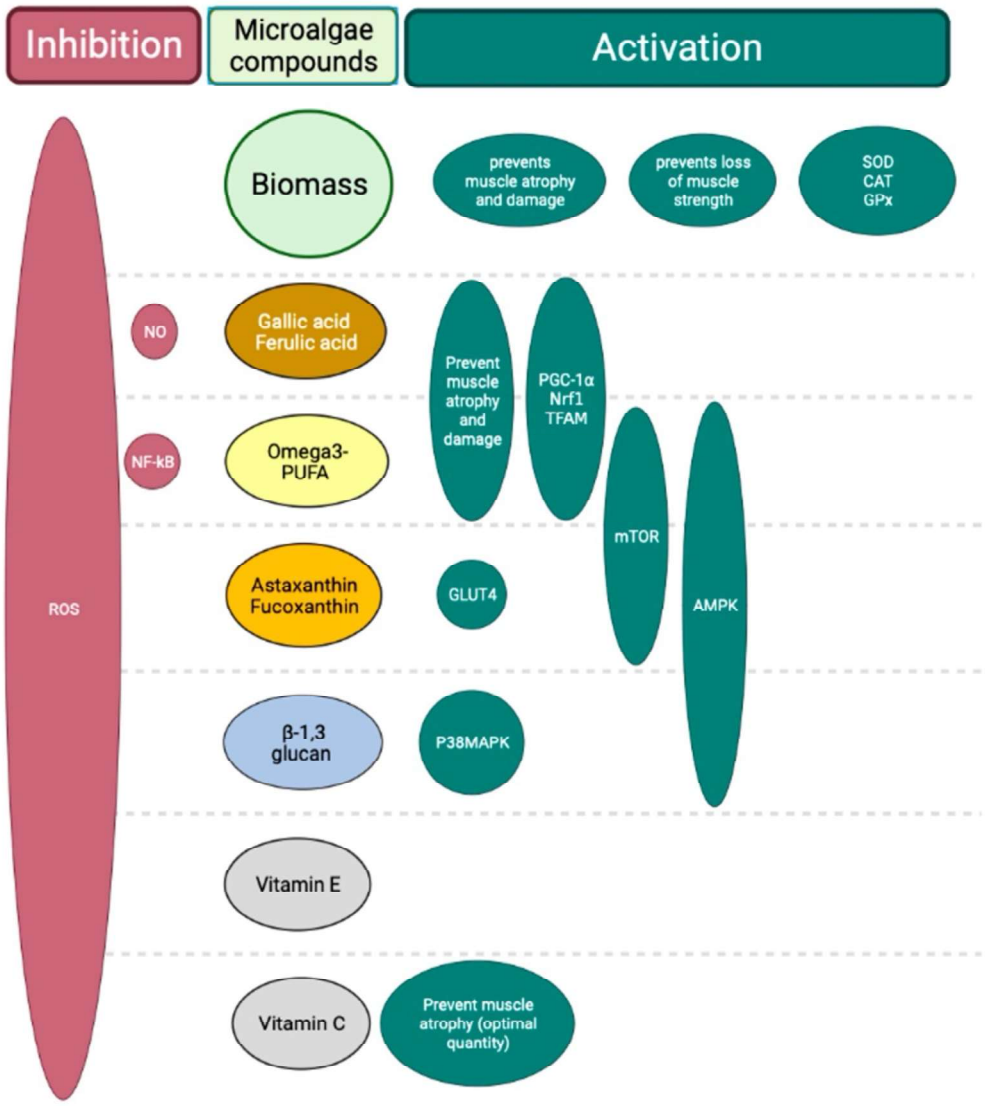


Figure 4. Microalgal effects described on skeletal muscle. Microalgal biomasses have been shown to prevent muscle atrophy and damage through contraction strength. Moreover, they increase antioxidant enzymatic activities, such as SOD, CAT and GPx. Microalgal compounds, such as gallic acid, ferulic acid and ω3-PUFAs, prevent muscle atrophy and damage, and activate mitochondrial biogenesis via the activation of Nrf1, TFAM and PGC-1α. The ω3-PUFA, Asx and Fcx are able to activate protein synthesis via the phosphorylation of mTOR. Then, these three molecules and β-1,3 glucan increase the activation of AMPK. All these reported microalgal molecules have an antioxidant activity against ROS. Created using Biorender.com (accessed on 28 April 2023).

6. Conclusions

Despite the limited scientific evidence of the influence of microalgae on skeletal muscles, to the authors' knowledge, this paper is the first to provide a comprehensive review with considerations of the previous and most recent literature regarding the impact that supplementation with microalgal compounds could have on physical exercise and muscle pathologies under conditions of oxidative stress. Their antioxidant composition in the form of polysaccharides, vitamins, carotenoids and phenolic compounds associated with ω3-PUFA makes microalgae a cocktail that can bring synergistic effects on pathological or healthy skeletal muscle through an antioxidant capacity that needs to be further understood.

Author Contributions: Writing—original draft preparation, J.V., C.L., J.H., C.M., M.C., I.M. and L.U.; writing—review and editing, J.V., C.L., J.H., C.M. and L.U.; visualization, J.V., C.L., J.H., C.M. and L.U.; supervision, C.L. and L.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Jordi Vignaud is a recipient of a PhD fellowship from the Collectivités Locales Mayennaises.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors would like to thank Solange Bruneau, an English linguist, and Victor Murison, a BiOSSE PhD student, for reviewing the English language and grammar.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Peeling, P.; Castell, L.M.; Derave, W.; de Hon, O.; Burke, L.M. Sports Foods and Dietary Supplements for Optimal Function and Performance Enhancement in Track-and-Field Athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2019**, *29*, 198–209. [CrossRef]
2. Raposo, A.; Saraiva, A.; Ramos, F.; Carrascosa, C.; Raheem, D.; Bárbara, R.; Silva, H. The Role of Food Supplementation in Microcirculation—A Comprehensive Review. *Biology* **2021**, *10*, 616. [CrossRef]
3. Comhaire, F.; Decleer, W. Can the Biological Mechanisms of Ageing Be Corrected by Food Supplementation. The Concept of Health Care over Sick Care. *Aging Male* **2020**, *23*, 1146–1157. [CrossRef] [PubMed]
4. Pal, J.; Shukla, B.; Maurya, A.; Verma, H.; Pandey, G.; Amitha, A. A Review on Role of Fish in Human Nutrition with Special Emphasis to Essential Fatty Acid. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.* **2018**, *6*, 427–430.
5. Caroppo, C.; Pagliara, P. Microalgae: A Promising Future. *Microorganisms* **2022**, *10*, 1488. [CrossRef] [PubMed]
6. Sathasivam, R.; Radhakrishnan, R.; Hashem, A.; Abd_Allah, E.F. Microalgae Metabolites: A Rich Source for Food and Medicine. *Saudi J. Biol. Sci.* **2019**, *26*, 709–722. [CrossRef] [PubMed]
7. Basheer, S.; Huo, S.; Zhu, F.; Qian, J.; Xu, L.; Cui, F.; Zou, B. Microalgae in Human Health and Medicine. In *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*; Alam, M.A., Xu, J.-L., Wang, Z., Eds.; Springer: Singapore, 2020; pp. 149–174. ISBN 9789811501692.
8. De la Rosa, A.; Olaso-Gonzalez, G.; Arc-Chagnaud, C.; Millan, F.; Salvador-Pascual, A.; García-Lucerga, C.; Blasco-Lafarga, C.; Garcia-Dominguez, E.; Carretero, A.; Correas, A.G.; et al. Physical Exercise in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Sport Health Sci.* **2020**, *9*, 394–404. [CrossRef]
9. Swift, D.L.; McGee, J.E.; Earnest, C.P.; Carlisle, E.; Nygard, M.; Johannsen, N.M. The Effects of Exercise and Physical Activity on Weight Loss and Maintenance. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2018**, *61*, 206–213. [CrossRef]
10. Kawamura, T.; Muraoka, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants* **2018**, *7*, 119. [CrossRef]
11. Pappas, A.; Tsiokanos, A.; Fatouros, I.G.; Poulios, A.; Kouretas, D.; Goutzourelas, N.; Giakas, G.; Jamurtas, A.Z. The Effects of Spirulina Supplementation on Redox Status and Performance Following a Muscle Damaging Protocol. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 3559. [CrossRef]
12. Khavari, F.; Saidijam, M.; Taheri, M.; Nouri, F. Microalgae: Therapeutic Potentials and Applications. *Mol. Biol. Rep.* **2021**, *48*, 4757–4765. [CrossRef] [PubMed]
13. Hemantkumar, J.N.; Rahimbhai, M.I.; Hemantkumar, J.N.; Rahimbhai, M.I. Microalgae and Its Use in Nutraceuticals and Food Supplements. In *Microalgae—From Physiology to Application*; Intechopen: London, UK, 2019. [CrossRef]
14. Sansone, C.; Brunet, C. Promises and Challenges of Microalgal Antioxidant Production. *Antioxidants* **2019**, *8*, 199. [CrossRef]
15. Le Goff, M.; Le Ferrec, E.; Mayer, C.; Mimouni, V.; Lagadic-Gossmann, D.; Schoefs, B.; Ulmann, L. Microalgal Carotenoids and Phytosterols Regulate Biochemical Mechanisms Involved in Human Health and Disease Prevention. *Biochimie* **2019**, *167*, 106–118. [CrossRef] [PubMed]
16. Parameswari, R.P.; Lakshmi, T. Microalgae as a Potential Therapeutic Drug Candidate for Neurodegenerative Diseases. *J. Biotechnol.* **2022**, *358*, 128–139. [CrossRef] [PubMed]
17. Hamidi, M.; Kozani, P.S.; Kozani, P.S.; Pierre, G.; Michaud, P.; Delattre, C. Marine Bacteria versus Microalgae: Who Is the Best for Biotechnological Production of Bioactive Compounds with Antioxidant Properties and Other Biological Applications? *Mar. Drugs* **2019**, *18*, 28. [CrossRef]
18. Coulombier, N.; Jauffrais, T.; Lebouvier, N. Antioxidant Compounds from Microalgae: A Review. *Mar. Drugs* **2021**, *19*, 549. [CrossRef]
19. Molino, A.; Iovine, A.; Casella, P.; Mehariya, S.; Chianese, S.; Cerbone, A.; Rimauro, J.; Musmarra, D. Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 2436. [CrossRef]

20. Singh, D.P.; Khattar, J.S.; Rajput, A.; Chaudhary, R.; Singh, R. High Production of Carotenoids by the Green Microalga Asterarcys Quadricellulare PUMCC 5.1.1 under Optimized Culture Conditions. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0221930. [CrossRef]
21. Leong, Y.K.; Chen, C.-Y.; Varjani, S.; Chang, J.-S. Producing Fucoxanthin from Algae—Recent Advances in Cultivation Strategies and Downstream Processing. *Bioresour. Technol.* **2022**, *344*, 126170. [CrossRef]
22. Khaw, Y.S.; Yusoff, F.M.; Tan, H.T.; Noor Mazli, N.A.I.; Nazarudin, M.F.; Shaharuddin, N.A.; Omar, A.R.; Takahashi, K. Fucoxanthin Production of Microalgae under Different Culture Factors: A Systematic Review. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 592. [CrossRef]
23. Hachicha, R.; Elleuch, F.; Ben Hlima, H.; Dubessay, P.; de Baynast, H.; Delattre, C.; Pierre, G.; Hachicha, R.; Abdelkafi, S.; Michaud, P.; et al. Biomolecules from Microalgae and Cyanobacteria: Applications and Market Survey. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 1924. [CrossRef]
24. Zhang, Y.; Ye, Y.; Bai, F.; Liu, J. The Oleaginous Astaxanthin-Producing Alga Chromochloris Zofingiensis: Potential from Production to an Emerging Model for Studying Lipid Metabolism and Carotenogenesis. *Biotechnol. Biofuels* **2021**, *14*, 119. [CrossRef] [PubMed]
25. Del Mondo, A.; Smerilli, A.; Sané, E.; Sansone, C.; Brunet, C. Challenging Microalgal Vitamins for Human Health. *Microb. Cell Factories* **2020**, *19*, 201. [CrossRef] [PubMed]
26. Fawcett, C.A.; Senhorinho, G.N.A.; Laamanen, C.A.; Scott, J.A. Microalgae as an Alternative to Oil Crops for Edible Oils and Animal Feed. *Algal Res.* **2022**, *64*, 102663. [CrossRef]
27. Abu-Ghosh, S.; Dubinsky, Z.; Verdelho, V.; Iluz, D. Unconventional High-Value Products from Microalgae: A Review. *Bioresour. Technol.* **2021**, *329*, 124895. [CrossRef]
28. Ma, M.; Li, Y.; Chen, J.; Wang, F.; Yuan, L.; Li, Y.; Zhang, B.; Ye, D.; Han, D.; Jin, H.; et al. High-Cell-Density Cultivation of the Flagellate Alga Poterioochromonas Malhamensis for Biomanufacturing the Water-Soluble β-1,3-Glucan with Multiple Biological Activities. *Bioresour. Technol.* **2021**, *337*, 125447. [CrossRef]
29. Schulze, C.; Wetzel, M.; Reinhardt, J.; Schmidt, M.; Felten, L.; Mundt, S. Screening of Microalgae for Primary Metabolites Including β-Glucans and the Influence of Nitrate Starvation and Irradiance on β-Glucan Production. *J. Appl. Phycol.* **2016**, *28*, 2719–2725. [CrossRef]
30. Yang, R.; Wei, D.; Xie, J. Diatoms as Cell Factories for High-Value Products: Chrysolaminarin, Eicosapentaenoic Acid, and Fucoxanthin. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2020**, *40*, 993–1009. [CrossRef]
31. Almendinger, M.; Saalfrank, F.; Rohn, S.; Kurth, E.; Springer, M.; Pleissner, D. Characterization of Selected Microalgae and Cyanobacteria as Sources of Compounds with Antioxidant Capacity. *Algal Res.* **2021**, *53*, 102168. [CrossRef]
32. León-Vaz, A.; León, R.; Vigara, J.; Funk, C. Exploring Nordic Microalgae as a Potential Novel Source of Antioxidant and Bioactive Compounds. *New Biotechnol.* **2023**, *73*, 1–8. [CrossRef]
33. Faraloni, C.; Di Lorenzo, T.; Bonetti, A. Impact of Light Stress on the Synthesis of Both Antioxidants Polyphenols and Carotenoids, as Fast Photoprotective Response in Chlamydomonas Reinhardtii: New Prospective for Biotechnological Potential of This Microalga. *Symmetry* **2021**, *13*, 2220. [CrossRef]
34. Anwer, S.S.; Sdiq, K.H.; Muhammad, K.R.; Aladdin, L.M. Phenolic Compound and Fatty Acid Properties of Some Microalgae Species Isolated from Erbil City. *Braz. J. Biol.* **2022**, *82*, e256927. [CrossRef] [PubMed]
35. Trentin, R.; Custódio, L.; Rodrigues, M.J.; Moschin, E.; Sciuto, K.; da Silva, J.P.; Moro, I. Total Phenolic Levels, In Vitro Antioxidant Properties, and Fatty Acid Profile of Two Microalgae, Tetraselmis Marina Strain IMA043 and Naviculoid Diatom Strain IMA053, Isolated from the North Adriatic Sea. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 207. [CrossRef] [PubMed]
36. Remize, M.; Brunel, Y.; Silva, J.L.; Berthon, J.-Y.; Filaire, E. Microalgae N-3 PUFAs Production and Use in Food and Feed Industries. *Mar. Drugs* **2021**, *19*, 113. [CrossRef]
37. Katayama, T.; Rahman, N.A.; Khatoon, H.; Kasan, N.A.; Nagao, N.; Yamada, Y.; Takahashi, K.; Furuya, K.; Wahid, M.E.A.; Yusoff, F.M.; et al. Bioprospecting of Tropical Microalgae for High-Value Products: N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Carotenoids. *Aquac. Rep.* **2022**, *27*, 101406. [CrossRef]
38. Chalima, A.; Boukouvalas, C.; Oikonomopoulou, V.; Topakas, E. Optimizing the Production of Docosahexaenoic Fatty Acid by Crypthecodinium Cohnii and Reduction in Process Cost by Using a Dark Fermentation Effluent. *Chem. Eng. J. Adv.* **2022**, *11*, 100345. [CrossRef]
39. Bell, K.E.; von Allmen, M.T.; Devries, M.C.; Phillips, S.M. Muscle Disuse as a Pivotal Problem in Sarcopenia-Related Muscle Loss and Dysfunction. *J. Frailty Aging* **2016**, *5*, 33–41. [CrossRef]
40. Fleck, S.J.; Falkel, J.E. Value of Resistance Training for the Reduction of Sports Injuries. *Sports Med.* **1986**, *3*, 61–68. [CrossRef]
41. Johnson, M.J.; Friedl, K.E.; Frykman, P.N.; Moore, R.J. Loss of Muscle Mass Is Poorly Reflected in Grip Strength Performance in Healthy Young Men. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1994**, *26*, 235–240. [CrossRef]
42. Proud, C.G. Signalling to Translation: How Signal Transduction Pathways Control the Protein Synthetic Machinery. *Biochem. J.* **2007**, *403*, 217–234. [CrossRef]
43. Szwed, A.; Kim, E.; Jacinto, E. Regulation and Metabolic Functions of MTORC1 and MTORC2. *Physiol. Rev.* **2021**, *101*, 1371–1426. [CrossRef] [PubMed]
44. Bodine, S.C.; Stitt, T.N.; Gonzalez, M.; Kline, W.O.; Stover, G.L.; Bauerlein, R.; Zlotchenko, E.; Scrimgeour, A.; Lawrence, J.C.; Glass, D.J.; et al. Akt/MTOR Pathway Is a Crucial Regulator of Skeletal Muscle Hypertrophy and Can Prevent Muscle Atrophy In Vivo. *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 1014–1019. [CrossRef] [PubMed]

45. Rommel, C.; Bodine, S.C.; Clarke, B.A.; Rossman, R.; Nunez, L.; Stitt, T.N.; Yancopoulos, G.D.; Glass, D.J. Mediation of IGF-1-Induced Skeletal Myotube Hypertrophy by PI(3)K/Akt/MTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 Pathways. *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 1009–1013. [CrossRef] [PubMed]
46. Shah, O.J.; Anthony, J.C.; Kimball, S.R.; Jefferson, L.S. 4E-BP1 and S6K1: Translational Integration Sites for Nutritional and Hormonal Information in Muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2000**, *279*, E715–E729. [CrossRef]
47. Yang, X.; Yang, C.; Farberman, A.; Rideout, T.C.; de Lange, C.F.M.; France, J.; Fan, M.Z. The Mammalian Target of Rapamycin-Signaling Pathway in Regulating Metabolism and Growth. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86*, E36–E50. [CrossRef]
48. Sanchez, A.M.J.; Candau, R.B.; Csibi, A.; Pagano, A.F.; Raibon, A.; Bernardi, H. The Role of AMP-Activated Protein Kinase in the Coordination of Skeletal Muscle Turnover and Energy Homeostasis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2012**, *303*, C475–C485. [CrossRef]
49. Thomson, D.M. The Role of AMPK in the Regulation of Skeletal Muscle Size, Hypertrophy, and Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3125. [CrossRef]
50. Settembre, C.; Ballabio, A. Lysosome: Regulator of Lipid Degradation Pathways. *Trends Cell Biol.* **2014**, *24*, 743–750. [CrossRef]
51. Klionsky, D.J.; Cuervo, A.M.; Seglen, P.O. Methods for Monitoring Autophagy from Yeast to Human. *Autophagy* **2007**, *3*, 181–206. [CrossRef]
52. Masiero, E.; Agatea, L.; Mammucari, C.; Blaauw, B.; Loro, E.; Komatsu, M.; Metzger, D.; Reggiani, C.; Schiaffino, S.; Sandri, M. Autophagy Is Required to Maintain Muscle Mass. *Cell Metab.* **2009**, *10*, 507–515. [CrossRef]
53. Li, Y.; Li, S.; Wu, H. Ubiquitination-Proteasome System (UPS) and Autophagy Two Main Protein Degradation Machineries in Response to Cell Stress. *Cells* **2022**, *11*, 851. [CrossRef]
54. Hosokawa, N.; Hara, T.; Kaizuka, T.; Kishi, C.; Takamura, A.; Miura, Y.; Iemura, S.; Natsume, T.; Takehana, K.; Yamada, N.; et al. Nutrient-Dependent MTORC1 Association with the ULK1-Atg13-FIP200 Complex Required for Autophagy. *Mol. Biol. Cell* **2009**, *20*, 1981–1991. [CrossRef] [PubMed]
55. Zhao, J.; Zhai, B.; Gygi, S.P.; Goldberg, A.L. MTOR Inhibition Activates Overall Protein Degradation by the Ubiquitin Proteasome System as Well as by Autophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 15790–15797. [CrossRef] [PubMed]
56. Levine, B.; Klionsky, D.J. Development by Self-Digestion: Molecular Mechanisms and Biological Functions of Autophagy. *Dev. Cell* **2004**, *6*, 463–477. [CrossRef] [PubMed]
57. Germain, D. Ubiquitin-Dependent and -Independent Mitochondrial Protein Quality Controls: Implications in Ageing and Neurodegenerative Diseases. *Mol. Microbiol.* **2008**, *70*, 1334–1341. [CrossRef]
58. Li, C.-W.; Yu, K.; Shyh-Chang, N.; Jiang, Z.; Liu, T.; Ma, S.; Luo, L.; Guang, L.; Liang, K.; Ma, W.; et al. Pathogenesis of Sarcopenia and the Relationship with Fat Mass: Descriptive Review. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2022**, *13*, 781–794. [CrossRef] [PubMed]
59. Abate, M.; Festa, A.; Falco, M.; Lombardi, A.; Luce, A.; Grimaldi, A.; Zappavigna, S.; Sperlongano, P.; Irace, C.; Caraglia, M.; et al. Mitochondria as Playmakers of Apoptosis, Autophagy and Senescence. *SI Cancer Cells Ther. Targets* **2020**, *98*, 139–153. [CrossRef]
60. Bloemberg, D.; Quadrilatero, J. Autophagy, Apoptosis, and Mitochondria: Molecular Integration and Physiological Relevance in Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **2019**, *317*, C111–C130. [CrossRef]
61. Bock, F.J.; Tait, S.W.G. Mitochondria as Multifaceted Regulators of Cell Death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2020**, *21*, 85–100. [CrossRef]
62. Bou-Teen, D.; Kaludercic, N.; Weissman, D.; Turan, B.; Maack, C.; Di Lisa, F.; Ruiz-Meana, M. Mitochondrial ROS and Mitochondria-Targeted Antioxidants in the Aged Heart. *Free Radic. Biol. Med.* **2021**, *167*, 109–124. [CrossRef]
63. Vargas-Mendoza, N.; Angeles-Valencia, M.; Morales-González, Á.; Madrigal-Santillán, E.O.; Morales-Martínez, M.; Madrigal-Bujaidar, E.; Álvarez-González, I.; Gutiérrez-Salinas, J.; Esquivel-Chirino, C.; Chamorro-Cevallos, G.; et al. Oxidative Stress, Mitochondrial Function and Adaptation to Exercise: New Perspectives in Nutrition. *Life* **2021**, *11*, 1269. [CrossRef]
64. De Mario, A.; Gherardi, G.; Rizzuto, R.; Mammucari, C. Skeletal Muscle Mitochondria in Health and Disease. *Cell Calcium* **2021**, *94*, 102357. [CrossRef] [PubMed]
65. Beignon, F.; Gueguen, N.; Tricoire-Leignel, H.; Mattei, C.; Lenaers, G. The Multiple Facets of Mitochondrial Regulations Controlling Cellular Thermogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* **2022**, *79*, 525. [CrossRef]
66. Bajes, H.R.; Hakooz, N.M.; Dardeer, K.T.; Al-Dujaili, E.A.S. The Effect of Endurance, Resistance Training, and Supplements on Mitochondria and Bioenergetics of Muscle Cells. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* **2022**, *33*, 673–681. [CrossRef] [PubMed]
67. Jordan, A.C.; Perry, C.G.R.; Cheng, A.J. Promoting a Pro-Oxidant State in Skeletal Muscle: Potential Dietary, Environmental, and Exercise Interventions for Enhancing Endurance-Training Adaptations. *Free Radic. Biol. Med.* **2021**, *176*, 189–202. [CrossRef]
68. MacInnis, M.J.; Egan, B.; Gibala, M.J. The Effect of Training on Skeletal Muscle and Exercise Metabolism. In *Exercise Metabolism*; McConell, G., Ed.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2022; pp. 215–242. ISBN 978-3-030-94305-9.
69. Yan, Z.; Spaulding, H.R. Extracellular Superoxide Dismutase, a Molecular Transducer of Health Benefits of Exercise. *Redox Biol.* **2020**, *32*, 101508. [CrossRef] [PubMed]
70. Powers, S.K.; Jackson, M.J. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol. Rev.* **2008**, *88*, 1243–1276. [CrossRef]
71. Bouviere, J.; Fortunato, R.S.; Dupuy, C.; Werneck-de-Castro, J.P.; Carvalho, D.P.; Louzada, R.A. Exercise-Stimulated ROS Sensitive Signaling Pathways in Skeletal Muscle. *Antioxidants* **2021**, *10*, 537. [CrossRef]
72. Favier, A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* **2006**, *64*, 390–396. [CrossRef]
73. Juan, C.A.; Pérez de la Lastra, J.M.; Plou, F.J.; Pérez-Lebeña, E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4642. [CrossRef]

74. Stamler, J.S.; Meissner, G. Physiology of Nitric Oxide in Skeletal Muscle. *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 209–237. [CrossRef] [PubMed]
75. Porrini, C.; Ramarao, N.; Tran, S.-L. Dr. NO and Mr. Toxic—The Versatile Role of Nitric Oxide. *Biol. Chem.* **2020**, *401*, 547–572. [CrossRef] [PubMed]
76. Suzuki, K.; Tominaga, T.; Ruhee, R.T.; Ma, S. Characterization and Modulation of Systemic Inflammatory Response to Exhaustive Exercise in Relation to Oxidative Stress. *Antioxidants* **2020**, *9*, 401. [CrossRef]
77. Gleeson, M.; Bishop, N.C.; Stensel, D.J.; Lindley, M.R.; Mastana, S.S.; Nimmo, M.A. The Anti-Inflammatory Effects of Exercise: Mechanisms and Implications for the Prevention and Treatment of Disease. *Nat. Rev. Immunol.* **2011**, *11*, 607–615. [CrossRef]
78. Wilund, K.R.; Thompson, S.; Viana, J.L.; Wang, A.Y.-M. Physical Activity and Health in Chronic Kidney Disease. *Contrib. Nephrol.* **2021**, *199*, 43–55. [CrossRef] [PubMed]
79. Bruunsgaard, H. Physical Activity and Modulation of Systemic Low-Level Inflammation. *J. Leukoc. Biol.* **2005**, *78*, 819–835. [CrossRef]
80. Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S.-C. NF-KB Signaling in Inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2017**, *2*, 17023. [CrossRef]
81. Thoma, A.; Lightfoot, A.P. NF-KB and Inflammatory Cytokine Signalling: Role in Skeletal Muscle Atrophy. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2018**, *1088*, 267–279. [CrossRef]
82. El Assar, M.; Angulo, J.; Rodríguez-Mañas, L. Oxidative Stress and Vascular Inflammation in Aging. *Free Radic. Biol. Med.* **2013**, *65*, 380–401. [CrossRef]
83. Vargas-Mendoza, N.; Morales-González, Á.; Madrigal-Santillán, E.O.; Madrigal-Bujaidar, E.; Álvarez-González, I.; García-Melo, L.F.; Anguiano-Robledo, L.; Fregoso-Aguilar, T.; Morales-Gonzalez, J.A. Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. *Antioxidants* **2019**, *8*, 196. [CrossRef]
84. Taherkhani, S.; Valaei, K.; Arazi, H.; Suzuki, K. An Overview of Physical Exercise and Antioxidant Supplementation Influences on Skeletal Muscle Oxidative Stress. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1528. [CrossRef]
85. Margaritelis, N.V.; Paschalis, V.; Theodorou, A.A.; Kyparos, A.; Nikolaidis, M.G. Redox Basis of Exercise Physiology. *Redox Biol.* **2020**, *35*, 101499. [CrossRef] [PubMed]
86. Margaritelis, N.V.; Paschalis, V.; Theodorou, A.A.; Kyparos, A.; Nikolaidis, M.G. Antioxidants in Personalized Nutrition and Exercise. *Adv. Nutr.* **2018**, *9*, 813–823. [CrossRef]
87. Baltaci, S.B.; Mogulkoc, R.; Baltaci, A.K. Resveratrol and Exercise. *Biomed. Rep.* **2016**, *5*, 525. [CrossRef] [PubMed]
88. Wu, R.-E.; Huang, W.-C.; Liao, C.-C.; Chang, Y.-K.; Kan, N.-W.; Huang, C.-C. Resveratrol Protects against Physical Fatigue and Improves Exercise Performance in Mice. *Molecules* **2013**, *18*, 4689–4702. [CrossRef] [PubMed]
89. Fovet, T.; Guilhot, C.; Delobel, P.; Chopard, A.; Py, G.; Brioche, T. Ergothioneine Improves Aerobic Performance Without Any Negative Effect on Early Muscle Recovery Signaling in Response to Acute Exercise. *Front. Physiol.* **2022**, *13*, 834597. [CrossRef]
90. Russo, M.T.; Santin, A.; Zuccarotto, A.; Leone, S.; Palumbo, A.; Ferrante, M.I.; Castellano, I. The First Genetic Engineered System for Ovothiol Biosynthesis in Diatoms Reveals a Mitochondrial Localization for the Sulfoxide Synthase OvoA. *Open Biol.* **2023**, *13*, 220309. [CrossRef]
91. Milito, A.; Castellano, I.; Burn, R.; Seebeck, F.P.; Brunet, C.; Palumbo, A. First Evidence of Ovothiol Biosynthesis in Marine Diatoms. *Free Radic. Biol. Med.* **2020**, *152*, 680–688. [CrossRef]
92. Brancaccio, M.; Milito, A.; Viegas, C.A.; Palumbo, A.; Simes, D.C.; Castellano, I. First Evidence of Dermo-Protective Activity of Marine Sulfur-Containing Histidine Compounds. *Free Radic. Biol. Med.* **2022**, *192*, 224–234. [CrossRef]
93. Powers, S.K.; Lennon, S.L. Analysis of Cellular Responses to Free Radicals: Focus on Exercise and Skeletal Muscle. *Proc. Nutr. Soc.* **1999**, *58*, 1025–1033. [CrossRef]
94. Powers, S.; Criswell, D.; Lawler, J.; Ji, L.L.; Martin, D.; Herb, R.A.; Dudley, G. Influence of Exercise and Fiber Type on Antioxidant Enzyme Activity in Rat Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol.* **1994**, *266*, R375–R380. [CrossRef]
95. Leeuwenburgh, C.; Hollander, J.; Leichtweis, S.; Griffiths, M.; Gore, M.; Ji, L.L. Adaptations of Glutathione Antioxidant System to Endurance Training Are Tissue and Muscle Fiber Specific. *Am. J. Physiol.* **1997**, *272*, R363–R369. [CrossRef] [PubMed]
96. Giustarini, D.; Tsikas, D.; Colombo, G.; Milzani, A.; Dalle-Donne, I.; Fanti, P.; Rossi, R. Pitfalls in the Analysis of the Physiological Antioxidant Glutathione (GSH) and Its Disulfide (GSSG) in Biological Samples: An Elephant in the Room. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **2016**, *1019*, 21–28. [CrossRef] [PubMed]
97. Li, J. Oxidative Stress during Exercise: Implication of Antioxidant Nutrients. *Free Radic. Biol. Med.* **1995**, *18*, 1079–1086. [CrossRef]
98. Timoshnikov, V.A.; Kobzeva, T.V.; Polyakov, N.E.; Kontoghiorghes, G.J. Redox Interactions of Vitamin C and Iron: Inhibition of the Pro-Oxidant Activity by Deferiprone. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 3967. [CrossRef]
99. Traber, M.G. Vitamin E Regulatory Mechanisms. *Annu. Rev. Nutr.* **2007**, *27*, 347–362. [CrossRef]
100. Lonn, E.; Bosch, J.; Yusuf, S.; Sheridan, P.; Pogue, J.; Arnold, J.M.O.; Ross, C.; Arnold, A.; Sleight, P.; Probstfield, J.; et al. Effects of Long-Term Vitamin E Supplementation on Cardiovascular Events and Cancer: A Randomized Controlled Trial. *JAMA* **2005**, *293*, 1338–1347. [CrossRef]
101. Ranchordas, M.K.; Rogerson, D.; Soltani, H.; Costello, J.T. Antioxidants for Preventing and Reducing Muscle Soreness after Exercise. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, *2017*, CD009789. [CrossRef]
102. Pilegaard, H.; Saltin, B.; Neufer, P.D. Exercise Induces Transient Transcriptional Activation of the PGC-1alpha Gene in Human Skeletal Muscle. *J. Physiol.* **2003**, *546*, 851–858. [CrossRef]
103. Merry, T.L.; Ristow, M. Do Antioxidant Supplements Interfere with Skeletal Muscle Adaptation to Exercise Training? *J. Physiol.* **2016**, *594*, 5135–5147. [CrossRef]

104. Dutra, M.T.; Alex, S.; Mota, M.R.; Sales, N.B.; Brown, L.E.; Bottaro, M. Effect of Strength Training Combined with Antioxidant Supplementation on Muscular Performance. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2018**, *43*, 775–781. [CrossRef] [PubMed]
105. Cruz-Jentoft, A.J.; Baeyens, J.P.; Bauer, J.M.; Boirie, Y.; Cederholm, T.; Landi, F.; Martin, F.C.; Michel, J.-P.; Rolland, Y.; Schneider, S.M.; et al. Sarcopenia: European Consensus on Definition and Diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* **2010**, *39*, 412–423. [CrossRef] [PubMed]
106. Cruz-Jentoft, A.J.; Bahat, G.; Bauer, J.; Boirie, Y.; Bruyère, O.; Cederholm, T.; Cooper, C.; Landi, F.; Rolland, Y.; Sayer, A.A.; et al. Sarcopenia: Revised European Consensus on Definition and Diagnosis. *Age Ageing* **2019**, *48*, 16–31. [CrossRef]
107. Larsson, L.; Degens, H.; Li, M.; Salviati, L.; Lee, Y.; Thompson, W.; Kirkland, J.L.; Sandri, M. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol. Rev.* **2019**, *99*, 427–511. [CrossRef] [PubMed]
108. Combaret, L.; Dardevet, D.; Béchet, D.; Taillandier, D.; Mosoni, L.; Attaix, D. Skeletal Muscle Proteolysis in Aging. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2009**, *12*, 37–41. [CrossRef]
109. Marzetti, E.; Calvani, R.; Tosato, M.; Cesari, M.; Di Bari, M.; Cherubini, A.; Broccatelli, M.; Savera, G.; D'Elia, M.; Pahor, M.; et al. Physical Activity and Exercise as Countermeasures to Physical Frailty and Sarcopenia. *Aging Clin. Exp. Res.* **2017**, *29*, 35–42. [CrossRef]
110. Chabi, B.; Ljubicic, V.; Menzies, K.J.; Huang, J.H.; Saleem, A.; Hood, D.A. Mitochondrial Function and Apoptotic Susceptibility in Aging Skeletal Muscle. *Aging Cell* **2008**, *7*, 2–12. [CrossRef]
111. Safdar, A.; Hamadeh, M.J.; Kaczor, J.J.; Raha, S.; de Beer, J.; Tarnopolsky, M.A. Aberrant Mitochondrial Homeostasis in the Skeletal Muscle of Sedentary Older Adults. *PLoS ONE* **2010**, *5*, e10778. [CrossRef]
112. Davies, K.J.; Lin, S.W.; Pacifici, R.E. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. IV. Degradation of Denatured Protein. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 9914–9920. [CrossRef]
113. Jackson, J.R.; Ryan, M.J.; Alway, S.E. Long-Term Supplementation with Resveratrol Alleviates Oxidative Stress but Does Not Attenuate Sarcopenia in Aged Mice. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2011**, *66*, 751–764. [CrossRef]
114. Lee, H.-Y.; Choi, C.S.; Birkenfeld, A.L.; Alves, T.C.; Jornayvaz, F.R.; Jurczak, M.J.; Zhang, D.; Woo, D.K.; Shadel, G.S.; Ladiges, W.; et al. Targeted Expression of Catalase to Mitochondria Prevents Age-Associated Reductions in Mitochondrial Function and Insulin Resistance. *Cell Metab.* **2010**, *12*, 668–674. [CrossRef]
115. Marzani, B.; Felzani, G.; Bellomo, R.G.; Vecchiet, J.; Marzatico, F. Human Muscle Aging: ROS-Mediated Alterations in Rectus Abdominis and Vastus Lateralis Muscles. *Exp. Gerontol.* **2005**, *40*, 959–965. [CrossRef] [PubMed]
116. Ryan, M.J.; Jackson, J.R.; Hao, Y.; Leonard, S.S.; Alway, S.E. Inhibition of Xanthine Oxidase Reduces Oxidative Stress and Improves Skeletal Muscle Function in Response to Electrically Stimulated Isometric Contractions in Aged Mice. *Free Radic. Biol. Med.* **2011**, *51*, 38–52. [CrossRef] [PubMed]
117. Shenton, D.; Smirnova, J.B.; Selley, J.N.; Carroll, K.; Hubbard, S.J.; Pavitt, G.D.; Ashe, M.P.; Grant, C.M. Global Translational Responses to Oxidative Stress Impact upon Multiple Levels of Protein Synthesis. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 29011–29021. [CrossRef] [PubMed]
118. Zhang, L.; Kimball, S.R.; Jefferson, L.S.; Shenberger, J.S. Hydrogen Peroxide Impairs Insulin-Stimulated Assembly of MTORC1. *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *46*, 1500–1509. [CrossRef]
119. Clavel, S.; Coldefy, A.-S.; Kurkdjian, E.; Salles, J.; Margaritis, I.; Derijard, B. Atrophy-Related Ubiquitin Ligases, Atrogin-1 and MuRF1 Are Up-Regulated in Aged Rat Tibialis Anterior Muscle. *Mech. Ageing Dev.* **2006**, *127*, 794–801. [CrossRef]
120. Hepple, R.T.; Qin, M.; Nakamoto, H.; Goto, S. Caloric Restriction Optimizes the Proteasome Pathway with Aging in Rat Plantaris Muscle: Implications for Sarcopenia. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2008**, *295*, R1231–R1237. [CrossRef]
121. Seymour, J.M.; Spruit, M.A.; Hopkinson, N.S.; Natanek, S.A.; Man, W.D.-C.; Jackson, A.; Gosker, H.R.; Schols, A.M.W.J.; Moxham, J.; Polkey, M.I.; et al. The Prevalence of Quadriceps Weakness in COPD and the Relationship with Disease Severity. *Eur. Respir. J.* **2010**, *36*, 81–88. [CrossRef]
122. Man, W.D.-C.; Hopkinson, N.S.; Harraf, F.; Nikoletou, D.; Polkey, M.I.; Moxham, J. Abdominal Muscle and Quadriceps Strength in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Thorax* **2005**, *60*, 718–722. [CrossRef]
123. Gea, J.; Orozco-Levi, M.; Barreiro, E.; Ferrer, A.; Broquetas, J. Structural and Functional Changes in the Skeletal Muscles of COPD Patients: The "Compartments" Theory. *Monaldi Arch. Chest Dis.* **2001**, *56*, 214–224.
124. Mador, M.J.; Bozkanat, E.; Kufel, T.J. Quadriceps Fatigue after Cycle Exercise in Patients with COPD Compared with Healthy Control Subjects. *Chest* **2003**, *123*, 1104–1111. [CrossRef] [PubMed]
125. Guo, Y.; Gosker, H.R.; Schols, A.M.W.J.; Kapchinsky, S.; Bourbeau, J.; Sandri, M.; Jagoe, R.T.; Debigaré, R.; Maltais, F.; Taivassalo, T.; et al. Autophagy in Locomotor Muscles of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2013**, *188*, 1313–1320. [CrossRef] [PubMed]
126. van den Borst, B.; Slot, I.G.M.; Hellwig, V.A.C.V.; Vosse, B.A.H.; Kelders, M.C.J.M.; Barreiro, E.; Schols, A.M.W.J.; Gosker, H.R. Loss of Quadriceps Muscle Oxidative Phenotype and Decreased Endurance in Patients with Mild-to-Moderate COPD. *J. Appl. Physiol.* **2013**, *114*, 1319–1328. [CrossRef]
127. Gosker, H.R.; Hesselink, M.K.C.; Duimel, H.; Ward, K.A.; Schols, A.M.W.J. Reduced Mitochondrial Density in the Vastus Lateralis Muscle of Patients with COPD. *Eur. Respir. J.* **2007**, *30*, 73–79. [CrossRef]
128. Green, H.J.; Bombardier, E.; Burnett, M.; Iqbal, S.; D'Arsigny, C.L.; O'Donnell, D.E.; Ouyang, J.; Webb, K.A. Organization of Metabolic Pathways in Vastus Lateralis of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2008**, *295*, R935–R941. [CrossRef] [PubMed]

129. Plant, P.J.; Brooks, D.; Faughnan, M.; Bayley, T.; Bain, J.; Singer, L.; Correa, J.; Pearce, D.; Binnie, M.; Batt, J. Cellular Markers of Muscle Atrophy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2010**, *42*, 461–471. [CrossRef]
130. Doucet, M.; Russell, A.P.; Léger, B.; Debigaré, R.; Joanisse, D.R.; Caron, M.-A.; LeBlanc, P.; Maltais, F. Muscle Atrophy and Hypertrophy Signaling in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2007**, *176*, 261–269. [CrossRef]
131. Vogiatzis, I.; Simoes, D.C.M.; Stratakos, G.; Kourepini, E.; Terzis, G.; Manta, P.; Athanasopoulos, D.; Roussos, C.; Wagner, P.D.; Zakynthinos, S. Effect of Pulmonary Rehabilitation on Muscle Remodelling in Cachectic Patients with COPD. *Eur. Respir. J.* **2010**, *36*, 301–310. [CrossRef]
132. Picard, M.; Godin, R.; Sinnreich, M.; Baril, J.; Bourbeau, J.; Perrault, H.; Taivassalo, T.; Burelle, Y. The Mitochondrial Phenotype of Peripheral Muscle in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Disuse or Dysfunction? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2008**, *178*, 1040–1047. [CrossRef]
133. Puente-Maestu, L.; Tejedor, A.; Lázaro, A.; de Miguel, J.; Alvarez-Sala, L.; González-Aragoneses, F.; Simón, C.; Agustí, A. Site of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production in Skeletal Muscle of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Its Relationship with Exercise Oxidative Stress. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2012**, *47*, 358–362. [CrossRef]
134. Levine, S.A. *Antioxidant Adaptation: Its Role in Free Radical Pathology*; Biocurrents Division, Allergy Research Group: San Leondro, CA, USA, 1985; ISBN 978-0-9614630-0-7.
135. Puig-Vilanova, E.; Rodriguez, D.A.; Lloreta, J.; Ausin, P.; Pascual-Guardia, S.; Broquetas, J.; Roca, J.; Gea, J.; Barreiro, E. Oxidative Stress, Redox Signaling Pathways, and Autophagy in Cachectic Muscles of Male Patients with Advanced COPD and Lung Cancer. *Free Radic. Biol. Med.* **2015**, *79*, 91–108. [CrossRef]
136. Powers, S.K.; Smuder, A.J.; Criswell, D.S. Mechanistic Links between Oxidative Stress and Disuse Muscle Atrophy. *Antioxid. Redox Signal.* **2011**, *15*, 2519–2528. [CrossRef] [PubMed]
137. Bushby, K.; Finkel, R.; Birnkrant, D.J.; Case, L.E.; Clemens, P.R.; Cripe, L.; Kaul, A.; Kinnett, K.; McDonald, C.; Pandya, S.; et al. Diagnosis and Management of Duchenne Muscular Dystrophy, Part 2: Implementation of Multidisciplinary Care. *Lancet Neurol.* **2010**, *9*, 177–189. [CrossRef]
138. Falzarano, M.S.; Scotton, C.; Passarelli, C.; Ferlini, A. Duchenne Muscular Dystrophy: From Diagnosis to Therapy. *Molecules* **2015**, *20*, 18168–18184. [CrossRef] [PubMed]
139. Sahenk, Z.; Mendell, J.R. The Muscular Dystrophies: Distinct Pathogenic Mechanisms Invite Novel Therapeutic Approaches. *Curr. Rheumatol. Rep.* **2011**, *13*, 199–207. [CrossRef]
140. Yiu, E.M.; Kornberg, A.J. Duchenne Muscular Dystrophy. *J. Paediatr. Child Health* **2015**, *51*, 759–764. [CrossRef] [PubMed]
141. Grounds, M.D.; Terrill, J.R.; Al-Mshhdani, B.A.; Duong, M.N.; Radley-Crabb, H.G.; Arthur, P.G. Biomarkers for Duchenne Muscular Dystrophy: Myonecrosis, Inflammation and Oxidative Stress. *Dis. Model. Mech.* **2020**, *13*, dmm043638. [CrossRef]
142. Terrill, J.R.; Duong, M.N.; Turner, R.; Le Guiner, C.; Boyatzis, A.; Kettle, A.J.; Grounds, M.D.; Arthur, P.G. Levels of Inflammation and Oxidative Stress, and a Role for Taurine in Dystropathology of the Golden Retriever Muscular Dystrophy Dog Model for Duchenne Muscular Dystrophy. *Redox Biol.* **2016**, *9*, 276–286. [CrossRef]
143. Kim, J.-H.; Kwak, H.-B.; Thompson, L.V.; Lawler, J.M. Contribution of Oxidative Stress to Pathology in Diaphragm and Limb Muscles with Duchenne Muscular Dystrophy. *J. Muscle Res. Cell Motil.* **2013**, *34*, 1–13. [CrossRef] [PubMed]
144. Allen, D.G.; Whitehead, N.P.; Froehner, S.C. Absence of Dystrophin Disrupts Skeletal Muscle Signaling: Roles of Ca^{2+}, Reactive Oxygen Species, and Nitric Oxide in the Development of Muscular Dystrophy. *Physiol. Rev.* **2016**, *96*, 253–305. [CrossRef]
145. Zainul Azlan, N.; Mohd Yusof, Y.A.; Makpol, S. Chlorella Vulgaris Ameliorates Oxidative Stress and Improves the Muscle Regenerative Capacity of Young and Old Sprague-Dawley Rats. *Nutrients* **2020**, *12*, 3752. [CrossRef]
146. Carfagna, S.; Napolitano, G.; Barone, D.; Pinto, G.; Pollio, A.; Venditti, P. Dietary Supplementation with the Microalga Galdieria Sulphuraria (Rhodophyta) Reduces Prolonged Exercise-Induced Oxidative Stress in Rat Tissues. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2015**, *2015*, 732090. [CrossRef]
147. De Freitas Brito, A.; Silva, A.S.; de Souza, A.A.; Ferreira, P.B.; de Souza, I.L.L.; da Araujo, L.C.C.; da Félix, G.S.; de Sampaio, R.S.; da Silva, M.C.C.; Tavares, R.L.; et al. Aortic Response to Strength Training and Spirulina Platensis Dependent on Nitric Oxide and Antioxidants. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 1522. [CrossRef] [PubMed]
148. Korivi, M.; Chen, C.-T.; Yu, S.-H.; Ye, W.; Cheng, I.-S.; Chang, J.-S.; Kuo, C.-H.; Hou, C.-W. Seaweed Supplementation Enhances Maximal Muscular Strength and Attenuates Resistance Exercise-Induced Oxidative Stress in Rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2019**, *2019*, e3528932. [CrossRef]
149. Stara, A.; Sergejevova, M.; Kozak, P.; Masojidek, J.; Velisek, J.; Kouba, A. Resistance of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) to Oxidative Stress after Chloramine-T Treatment Is Increased by Microalgae Carotenoid-Rich Diet. *Neuro Endocrinol. Lett.* **2014**, *35* (Suppl. 2), 71–80. [PubMed]
150. Ibrahim, D.; Abd El-Hamid, M.I.; Al-Zaban, M.I.; ElHady, M.; El-Azzouny, M.M.; ElFeky, T.M.; Al Sadik, G.M.; Samy, O.M.; Hamed, T.A.; Albalwe, F.M.; et al. Impacts of Fortifying Nile Tilapia (Oreochromis Niloticus) Diet with Different Strains of Microalgae on Its Performance, Fillet Quality and Disease Resistance to Aeromonas Hydrophila Considering the Interplay between Antioxidant and Inflammatory Response. *Antioxidants* **2022**, *11*, 2181. [CrossRef]
151. Sharma, S.; Shah, E.; Davla, D.; Dixit, G.; Patel, A.; Kumar, A.K. Effect of Microalga-Based Diet on Oxidative Stress Enzymes of African Catfish, Clarias Gariepinus. *Int. Aquat. Res.* **2019**, *11*, 377–387. [CrossRef]

152. Marques, A.E.M.L.; Balen, R.E.; da Silva Pereira Fernandes, L.; Motta, C.M.; de Assis, H.C.S.; Taher, D.M.; Meurer, F.; Vargas, J.V.C.; Mariano, A.B.; Cestari, M.M. Diets Containing Residual Microalgae Biomass Protect Fishes against Oxidative Stress and DNA Damage. *J. Appl. Phycol.* **2019**, *31*, 2933–2940. [CrossRef]
153. Din, N.A.S.; Mohd Alayudin, A.S.; Sofian-Seng, N.-S.; Rahman, H.A.; Mohd Razali, N.S.; Lim, S.J.; Wan Mustapha, W.A. Brown Algae as Functional Food Source of Fucoxanthin: A Review. *Foods* **2022**, *11*, 2235. [CrossRef]
154. Miyashita, K.; Beppu, F.; Hosokawa, M.; Liu, X.; Wang, S. Nutraceutical Characteristics of the Brown Seaweed Carotenoid Fucoxanthin. *Arch. Biochem. Biophys.* **2020**, *686*, 108364. [CrossRef]
155. Nishikawa, S.; Hosokawa, M.; Miyashita, K. Fucoxanthin Promotes Translocation and Induction of Glucose Transporter 4 in Skeletal Muscles of Diabetic/Obese KK-Ay Mice. *Phytomedicine* **2012**, *19*, 389–394. [CrossRef] [PubMed]
156. Wang, M.; Xu, P.; Liao, L.; Gao, L.; Amakye, W.K.; Zhang, Y.; Yao, M.; Ren, J. Haematococcus Pluvialis Extends Yeast Lifespan and Improves Slc25a46 Gene Knockout-Associated Mice Phenotypic Defects. *Mol. Nutr. Food Res.* **2021**, *65*, e2100086. [CrossRef]
157. Yoshikawa, M.; Hosokawa, M.; Miyashita, K.; Nishino, H.; Hashimoto, T. Effects of Fucoxanthin on the Inhibition of Dexamethasone-Induced Skeletal Muscle Loss in Mice. *Nutrients* **2021**, *13*, 1079. [CrossRef] [PubMed]
158. Perera, C.O.; Yen, G.M. Functional Properties of Carotenoids in Human Health. *Int. J. Food Prop.* **2007**, *10*, 201–230. [CrossRef]
159. Aoi, W.; Naito, Y.; Takanami, Y.; Ishii, T.; Kawai, Y.; Akagiri, S.; Kato, Y.; Osawa, T.; Yoshikawa, T. Astaxanthin Improves Muscle Lipid Metabolism in Exercise via Inhibitory Effect of Oxidative CPT I Modification. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *366*, 892–897. [CrossRef]
160. Polotow, T.G.; Vardaris, C.V.; Mihaliuc, A.R.; Gonçalves, M.S.; Pereira, B.; Ganini, D.; Barros, M.P. Astaxanthin Supplementation Delays Physical Exhaustion and Prevents Redox Imbalances in Plasma and Soleus Muscles of Wistar Rats. *Nutrients* **2014**, *6*, 5819–5838. [CrossRef]
161. Yoshihara, T.; Yamamoto, Y.; Shibaguchi, T.; Miyaji, N.; Kakigi, R.; Naito, H.; Goto, K.; Ohmori, D.; Yoshioka, T.; Sugiura, T. Dietary Astaxanthin Supplementation Attenuates Disuse-Induced Muscle Atrophy and Myonuclear Apoptosis in the Rat Soleus Muscle. *J. Physiol. Sci.* **2017**, *67*, 181–190. [CrossRef]
162. Kanazashi, M.; Okumura, Y.; Al-Nassan, S.; Murakami, S.; Kondo, H.; Nagatomo, F.; Fujita, N.; Ishihara, A.; Roy, R.R.; Fujino, H. Protective Effects of Astaxanthin on Capillary Regression in Atrophied Soleus Muscle of Rats. *Acta Physiol.* **2013**, *207*, 405–415. [CrossRef]
163. Sun, L.; Miyaji, N.; Yang, M.; Mills, E.M.; Taniyama, S.; Uchida, T.; Nikawa, T.; Li, J.; Shi, J.; Tachibana, K.; et al. Astaxanthin Prevents Atrophy in Slow Muscle Fibers by Inhibiting Mitochondrial Reactive Oxygen Species via a Mitochondria-Mediated Apoptosis Pathway. *Nutrients* **2021**, *13*, 379. [CrossRef]
164. Res, P.T.; Cermak, N.M.; Stinkens, R.; Tollakson, T.J.; Haenen, G.R.; Bast, A.; Van Loon, L.J.C. Astaxanthin Supplementation Does Not Augment Fat Use or Improve Endurance Performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2013**, *45*, 1158–1165. [CrossRef]
165. Bloomer, R.J.; Fry, A.; Schilling, B.; Chiu, L.; Hori, N.; Weiss, L. Astaxanthin Supplementation Does Not Attenuate Muscle Injury Following Eccentric Exercise in Resistance-Trained Men. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2005**, *15*, 401–412. [CrossRef] [PubMed]
166. Ewaschuk, J.B.; Almasud, A.; Mazurak, V.C. Role of N-3 Fatty Acids in Muscle Loss and Myosteatosis. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2014**, *39*, 654–662. [CrossRef] [PubMed]
167. Gray, S.R.; Mittendorfer, B. Fish Oil-Derived n-3 Polyunsaturated Fatty Acids for the Prevention and Treatment of Sarcopenia. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2018**, *21*, 104–109. [CrossRef]
168. Lalia, A.Z.; Dasari, S.; Robinson, M.M.; Abid, H.; Morse, D.M.; Klaus, K.A.; Lanza, I.R. Influence of Omega-3 Fatty Acids on Skeletal Muscle Protein Metabolism and Mitochondrial Bioenergetics in Older Adults. *Aging* **2017**, *9*, 1096–1129. [CrossRef] [PubMed]
169. McGlory, C.; Calder, P.C.; Nunes, E.A. The Influence of Omega-3 Fatty Acids on Skeletal Muscle Protein Turnover in Health, Disuse, and Disease. *Front. Nutr.* **2019**, *6*, 144. [CrossRef] [PubMed]
170. Miotto, P.M.; Mcglory, C.; Bahniwal, R.; Kamal, M.; Phillips, S.M.; Holloway, G.P. Supplementation with Dietary ω-3 Mitigates Immobilization-Induced Reductions in Skeletal Muscle Mitochondrial Respiration in Young Women. *FASEB J.* **2019**, *33*, 8232–8240. [CrossRef] [PubMed]
171. Ferguson, E.J.; Seigel, J.W.; McGlory, C. Omega-3 Fatty Acids and Human Skeletal Muscle. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2021**, *24*, 114–119. [CrossRef]
172. Lanza, I.R.; Blachnio-Zabielska, A.; Johnson, M.L.; Schimke, J.M.; Jakaitis, D.R.; Lebrasseur, N.K.; Jensen, M.D.; Sreekumaran Nair, K.; Zabielski, P. Influence of Fish Oil on Skeletal Muscle Mitochondrial Energetics and Lipid Metabolites during High-Fat Diet. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* **2013**, *304*, E1391–E1403. [CrossRef]
173. Hsueh, T.-Y.; Baum, J.I.; Huang, Y. Effect of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Myogenesis and Mitochondrial Biosynthesis during Murine Skeletal Muscle Cell Differentiation. *Front. Nutr.* **2018**, *5*, 15. [CrossRef]
174. Gammone, M.A.; Riccioni, G.; Parrinello, G.; D'Orazio, N. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Benefits and Endpoints in Sport. *Nutrients* **2019**, *11*, 46. [CrossRef]
175. Jeromson, S.; Gallagher, I.J.; Galloway, S.D.R.; Hamilton, D.L. Omega-3 Fatty Acids and Skeletal Muscle Health. *Mar. Drugs* **2015**, *13*, 6977–7004. [CrossRef] [PubMed]
176. Smith, G.I.; Atherton, P.; Reeds, D.N.; Mohammed, B.S.; Rankin, D.; Rennie, M.J.; Mittendorfer, B. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Augment the Muscle Protein Anabolic Response to Hyperinsulinaemia-Hyperaminoacidaemia in Healthy Young and Middle-Aged Men and Women. *Clin. Sci.* **2011**, *121*, 267–278. [CrossRef] [PubMed]

177. Yoshino, J.; Smith, G.I.; Kelly, S.C.; Julliand, S.; Reeds, D.N.; Mittendorfer, B. Effect of Dietary N-3 PUFA Supplementation on the Muscle Transcriptome in Older Adults. *Physiol. Rep.* **2016**, *4*, e12785. [CrossRef] [PubMed]
178. Tessier, A.-J.; Chevalier, S. An Update on Protein, Leucine, Omega-3 Fatty Acids, and Vitamin D in the Prevention and Treatment of Sarcopenia and Functional Decline. *Nutrients* **2018**, *10*, 1099. [CrossRef] [PubMed]
179. Dupont, J.; Dedeyne, L.; Dalle, S.; Koppo, K.; Gielen, E. The Role of Omega-3 in the Prevention and Treatment of Sarcopenia. *Aging Clin. Exp. Res.* **2019**, *31*, 825–836. [CrossRef]
180. Rolland, Y.; de Souto Barreto, P.; Maltais, M.; Guyonnet, S.; Cantet, C.; Andrieu, S.; Vellas, B. Effect of Long-Term Omega 3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation with or without Multidomain Lifestyle Intervention on Muscle Strength in Older Adults: Secondary Analysis of the Multidomain Alzheimer Preventive Trial (MAPT). *Nutrients* **2019**, *11*, 1931. [CrossRef]
181. Smith, G.I.; Julliand, S.; Reeds, D.N.; Sinacore, D.R.; Klein, S.; Mittendorfer, B. Fish Oil–Derived N−3 PUFA Therapy Increases Muscle Mass and Function in Healthy Older Adults1. *Am. J. Clin. Nutr.* **2015**, *102*, 115–122. [CrossRef]
182. Krzymińska-Siemaszko, R.; Czepulis, N.; Lewandowicz, M.; Zasadzka, E.; Suwalska, A.; Witowski, J.; Wieczorowska-Tobis, K. The Effect of a 12-Week Omega-3 Supplementation on Body Composition, Muscle Strength and Physical Performance in Elderly Individuals with Decreased Muscle Mass. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* **2015**, *12*, 10558–10574. [CrossRef]
183. Rodríguez-Cruz, M.; del Rocío Cruz-Guzmán, O.; Almeida-Becerril, T.; Solís-Serna, A.D.; Atilano-Miguel, S.; Sánchez-González, J.R.; Barbosa-Cortés, L.; Ruíz-Cruz, E.D.; Huicochea, J.C.; Cárdenas-Conejo, A.; et al. Potential Therapeutic Impact of Omega-3 Long Chain-Polyunsaturated Fatty Acids on Inflammation Markers in Duchenne Muscular Dystrophy: A Double-Blind, Controlled Randomized Trial. *Clin. Nutr.* **2018**, *37*, 1840–1851. [CrossRef]
184. Lam, C.N.; Watt, A.E.; Isenring, E.A.; de van der Schueren, M.A.E.; Meij, B.S. van der The Effect of Oral Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Muscle Maintenance and Quality of Life in Patients with Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin. Nutr.* **2021**, *40*, 3815–3826. [CrossRef]
185. You, J.-S.; Mcnally, R.M.; Jacobs, B.L.; Privett, R.E.; Gundermann, D.M.; Lin, K.-H.; Steinert, N.D.; Goodman, C.A.; Hornberger, T.A. The Role of Raptor in the Mechanical Load-Induced Regulation of MTOR Signaling, Protein Synthesis, and Skeletal Muscle Hypertrophy. *FASEB J.* **2019**, *33*, 4021–4034. [CrossRef]
186. Liu, S.-H.; Chiu, C.-Y.; Wang, L.-P.; Chiang, M.-T. Omega-3 Fatty Acids-Enriched Fish Oil Activates AMPK/PGC-1α Signaling and Prevents Obesity-Related Skeletal Muscle Wasting. *Mar. Drugs* **2019**, *17*, 380. [CrossRef] [PubMed]
187. da Silva, E.P.; Nachbar, R.T.; Levada-Pires, A.C.; Hirabara, S.M.; Lambertucci, R.H. Omega-3 Fatty Acids Differentially Modulate Enzymatic Anti-Oxidant Systems in Skeletal Muscle Cells. *Cell Stress Chaperones* **2016**, *21*, 87–95. [CrossRef] [PubMed]
188. Kamolrat, T.; Gray, S.R. The Effect of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acid on Protein Synthesis and Breakdown in Murine C2C12 Myotubes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2013**, *432*, 593–598. [CrossRef] [PubMed]
189. Chen, S.-C.; Chen, P.-Y.; Wu, Y.-L.; Chen, C.-W.; Chen, H.-W.; Lii, C.-K.; Sun, H.-L.; Liu, K.-L. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Amend Palmitate-Induced Inflammation and Insulin Resistance in Mouse C2C12 Myotubes. *Food Funct.* **2016**, *7*, 270–278. [CrossRef]
190. Tachtsis, B.; Whitfield, J.; Hawley, J.A.; Hoffman, N.J. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Mitigate Palmitate-Induced Impairments in Skeletal Muscle Cell Viability and Differentiation. *Front. Physiol.* **2020**, *11*, 563. [CrossRef]
191. Jung, T.W.; Kim, H.-C.; Abd El-Aty, A.M.; Jeong, J.H. Protectin DX Ameliorates Palmitate- or High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance and Inflammation through an AMPK-PPARα-Dependent Pathway in Mice. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1397. [CrossRef]
192. Wei, H.-K.; Deng, Z.; Jiang, S.-Z.; Song, T.-X.; Zhou, Y.-F.; Peng, J.; Tao, Y.-X. Eicosapentaenoic Acid Abolishes Inhibition of Insulin-Induced MTOR Phosphorylation by LPS via PTP1B Downregulation in Skeletal Muscle. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2017**, *439*, 116–125. [CrossRef]
193. Mohd Sukri, N. Does Vitamin C Minimise Exercise-Induced Oxidative Stress? *Sport Sci. Health* **2021**, *17*, 505–533. [CrossRef]
194. Welch, A.A.; Jennings, A.; Kelaiditi, E.; Skinner, J.; Steves, C.J. Cross-Sectional Associations Between Dietary Antioxidant Vitamins C, E and Carotenoid Intakes and Sarcopenic Indices in Women Aged 18–79 Years. *Calcif. Tissue Int.* **2020**, *106*, 331–342. [CrossRef]
195. Lewis, L.N.; Hayhoe, R.P.G.; Mulligan, A.A.; Luben, R.N.; Khaw, K.-T.; Welch, A.A. Lower Dietary and Circulating Vitamin C in Middle- and Older-Aged Men and Women Are Associated with Lower Estimated Skeletal Muscle Mass. *J. Nutr.* **2020**, *150*, 2789–2798. [CrossRef] [PubMed]
196. Takisawa, S.; Funakoshi, T.; Yatsu, T.; Nagata, K.; Aigaki, T.; Machida, S.; Ishigami, A. Vitamin C Deficiency Causes Muscle Atrophy and a Deterioration in Physical Performance. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4702. [CrossRef] [PubMed]
197. Paulsen, G.; Cumming, K.T.; Holden, G.; Hallén, J.; Rønnestad, B.R.; Sveen, O.; Skaug, A.; Paur, I.; Bastani, N.E.; Østgaard, H.N.; et al. Vitamin C and E Supplementation Hampers Cellular Adaptation to Endurance Training in Humans: A Double-Blind, Randomised, Controlled Trial. *J. Physiol.* **2014**, *592*, 1887–1901. [CrossRef] [PubMed]
198. Damiano, S.; Muscariello, E.; La Rosa, G.; Di Maro, M.; Mondola, P.; Santillo, M. Dual Role of Reactive Oxygen Species in Muscle Function: Can Antioxidant Dietary Supplements Counteract Age-Related Sarcopenia? *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 3815. [CrossRef] [PubMed]
199. Zingg, J.-M. Vitamin E: Regulatory Role on Signal Transduction. *IUBMB Life* **2019**, *71*, 456–478. [CrossRef]
200. Schneider, D.A.; Trence, D.L. Possible Role of Nutrition in Prevention of Sarcopenia and Falls. *Endocr. Pract.* **2019**, *25*, 1184–1190. [CrossRef]
201. Vitale, K.; Getzin, A. Nutrition and Supplement Update for the Endurance Athlete: Review and Recommendations. *Nutrients* **2019**, *11*, 1289. [CrossRef]

202. Ganapathy, A.; Nieves, J.W. Nutrition and Sarcopenia—What Do We Know? *Nutrients* **2020**, *12*, 1755. [CrossRef]
203. Ozanne, H.; Toumi, H.; Roubinet, B.; Landemarre, L.; Lespessailles, E.; Daniellou, R.; Cesaro, A. Laminarin Effects, a β-(1,3)-Glucan, on Skin Cell Inflammation and Oxidation. *Cosmetics* **2020**, *7*, 66. [CrossRef]
204. Karuppusamy, S.; Rajauria, G.; Fitzpatrick, S.; Lyons, H.; McMahon, H.; Curtin, J.; Tiwari, B.K.; O'Donnell, C. Biological Properties and Health-Promoting Functions of Laminarin: A Comprehensive Review of Preclinical and Clinical Studies. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 772. [CrossRef]
205. Kim, J.H.; Lee, J.O.; Moon, J.W.; Kang, M.J.; Byun, W.S.; Han, J.A.; Kim, S.J.; Park, S.H.; Kim, H.S. Laminarin From Salicornia Herbacea Stimulates Glucose Uptake Through AMPK-P38 MAPK Pathways in L6 Muscle Cells. *Nat. Prod. Commun.* **2020**, *15*, 1934578X20901409. [CrossRef]
206. Song, L.; Zhou, Y.; Ni, S.; Wang, X.; Yuan, J.; Zhang, Y.; Zhang, S. Dietary Intake of β-Glucans Can Prolong Lifespan and Exert an Antioxidant Action on Aged Fish Nothobranchius Guentheri. *Rejuvenation Res.* **2020**, *23*, 293–301. [CrossRef] [PubMed]
207. Ahmad Bhat, Z.; Hawid Wanih, A.; War, J.M. Major Bioactive Properties of Ganoderma Polysaccharides: A Review. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **2021**, *14*, 11–24. [CrossRef]
208. Zhao, Z.; Zheng, X.; Fang, F. Ganoderma Lucidum Polysaccharides Supplementation Attenuates Exercise-Induced Oxidative Stress in Skeletal Muscle of Mice. *Saudi J. Biol. Sci.* **2014**, *21*, 119–123. [CrossRef]
209. Salucci, S.; Falcieri, E. Polyphenols and Their Potential Role in Preventing Skeletal Muscle Atrophy. *Nutr. Res.* **2020**, *74*, 10–22. [CrossRef] [PubMed]
210. Chang, W.-T.; Huang, S.-C.; Cheng, H.-L.; Chen, S.-C.; Hsu, C.-L. Rutin and Gallic Acid Regulates Mitochondrial Functions via the SIRT1 Pathway in C2C12 Myotubes. *Antioxidants* **2021**, *10*, 286. [CrossRef]
211. Kosuru, R.Y.; Roy, A.; Das, S.K.; Bera, S. Gallic Acid and Gallates in Human Health and Disease: Do Mitochondria Hold the Key to Success? *Mol. Nutr. Food Res.* **2018**, *62*, 1700699. [CrossRef]
212. Chiu, H.-F.; Lin, T.-Y.; Shen, Y.-C.; Venkatakrishnan, K.; Wang, C.-K. Improvement of Green Tea Polyphenol with Milk on Skin with Respect to Antioxidation in Healthy Adults: A Double-Blind Placebo-Controlled Randomized Crossover Clinical Trial. *Food Funct.* **2016**, *7*, 893–901. [CrossRef]
213. You, Y.; Kim, K.; Yoon, H.-G.; Lee, K.-W.; Lee, J.; Chun, J.; Shin, D.-H.; Park, J.; Jun, W. Chronic Effect of Ferulic Acid from Pseudosasa Japonica Leaves on Enhancing Exercise Activity in Mice. *Phytother. Res.* **2010**, *24*, 1508–1513. [CrossRef]
214. Sun, S.; Ruan, Y.; Yan, M.; Xu, K.; Yang, Y.; Shen, T.; Jin, Z. Ferulic Acid Alleviates Oxidative Stress-Induced Cardiomyocyte Injury by the Regulation of MiR-499-5p/P21 Signal Cascade. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2021**, *2021*, 1921457. [CrossRef]
215. Salau, V.F.; Erukainure, O.L.; Koorbanally, N.A.; Islam, M.S. Ferulic Acid Promotes Muscle Glucose Uptake and Modulate Dysregulated Redox Balance and Metabolic Pathways in Ferric-Induced Pancreatic Oxidative Injury. *J. Food Biochem.* **2022**, *46*, e13641. [CrossRef] [PubMed]
216. Singh, S.S.B.; Patil, K.N. Trans-Ferulic Acid Attenuates Hyperglycemia-Induced Oxidative Stress and Modulates Glucose Metabolism by Activating AMPK Signaling Pathway in Vitro. *J. Food Biochem.* **2022**, *46*, e14038. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

COLLEGE DOCTORAL PAYS DE LA LOIRE — VEGETAL, ANIMAL, ALIMENT, MER, ENVIRONNEMENT

Le Mans Université

BIOSSE Biologie des Organismes, Stress, Santé, Environnement — Le Mans Université - UCO

Titre : Effet d'un extrait de spiruline sur le métabolisme musculaire et hépatique chez le rat mâle Wistar soumis à un régime hyperlipidique et à un entraînement en endurance

Mots clés : *extrait de Spiruline, phycocyanine, rat Wistar, régime obésogène, entraînement d'endurance, expression de gènes, métabolisme énergétique, adaptation musculaire.*

Résumé : L'augmentation croissante de la sédentarité et de l'obésité de la population mondiale, justifie la recherche de stratégies d'intervention, qu'elles soient physiques ou nutritionnelles, afin de lutter contre cette tendance. De nombreux facteurs tels que les facteurs environnementaux, sociaux ou nutritionnels sont associés à l'obésité. Dans la présente étude, seul le facteur nutritionnel sera appréhendé dans le cadre de l'installation de cette pathologie chez un modèle murin. Cependant, modifier ses habitudes alimentaires ne suffit pas toujours à remédier à l'obésité. En effet, la pratique d'une activité physique régulière et la prise de compléments alimentaires, contenant des molécules bioactives non médicamenteuses, semblent être une stratégie prometteuse afin de palier ce trouble du métabolisme. Depuis de nombreuses années des compléments alimentaires à base de microalgues ont été développés en nutraceutique, faisant des ressources reconnues pour leur valeur nutritive. Parmi celles-ci, la spiruline, une cyanobactérie, a montré un potentiel d'intérêt dans le domaine de la nutrition. Ainsi, notre étude a consisté à évaluer les effets d'une supplémentation en extrait de spiruline (SLE), riche en phycocyanine (PC), sur le métabolisme et la physiologie de jeunes rats adultes soumis à un régime hyperlipidique et à un entraînement en endurance.

Trois axes principaux ont été explorés dans le cadre d'une supplémentation en SLE associé à un entraînement en endurance : (1) performance physique et adaptations musculaires dans le contexte d'un régime équilibré ; (2) métabolisme énergétique musculaire au cours d'un régime obésogène (riche en lipides et en sucres) ; (3) métabolisme des acides gras hépatiques dans un modèle de stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD).

Durant huit semaines, plusieurs paramètres physiologiques ont été suivis, dont le poids corporel, l'apport alimentaire, et un test d'effort maximal. À la septième semaine, un test de tolérance au glucose a été réalisé afin d'évaluer la régulation de la glycémie souvent altérée par un régime obésogène.

Des analyses biochimiques plasmatiques ont permis de déterminer le profil glycémique (glycémie à jeun, insuline) et le profil lipidique (triglycérides et cholestérol). L'expression des gènes associés à la fonction musculaire et au métabolisme énergétique a été mesurée dans deux types de muscles, le soléaire et l'extenseur long des orteils. Dans le foie, le profil en acides gras a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse, en complément du dosage des triglycérides hépatiques et de l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des acides gras. Avec un régime équilibré, le SLE améliore la performance aérobie, comme l'indique l'augmentation du test d'effort maximal. La surexpression de gènes clés tels que la carnitine palmitoyltransférase 1A et la glycogène synthase suggère un renforcement du métabolisme énergétique musculaire pouvant expliquer l'amélioration des performances mesurées. Par ailleurs, la combinaison entre la supplémentation en SLE et l'entraînement a amélioré la régulation de la glycémie, avec une augmentation de l'insulinémie et une meilleure tolérance au glucose. Dans un contexte de régime obésogène, le SLE a permis de réduire la glycémie, améliorer le profil lipidique, protéger le foie de l'accumulation lipidique, et moduler favorablement l'expression de gènes du métabolisme musculaire. Ceci a donc contribué à limiter les complications associées telles que le diabète de type 2, la NAFLD et les maladies cardiovasculaires. L'association avec l'activité physique a amplifié ces effets bénéfiques, suggérant une synergie entre supplémentation et entraînement.

En conclusion, dans les conditions expérimentales étudiées, le SLE se révèle être un complément nutritionnel prometteur pour améliorer la performance physique, soutenir le métabolisme énergétique et atténuer les effets d'une alimentation déséquilibrée.

Title : Effect of a spirulina extract on muscle and hepatic metabolism in male Wistar rats subjected to a high-fat diet and endurance training

Keywords : *spirulina extract, phycocyanin, Wistar rat, obesogenic diet, endurance training, gene expression, energy metabolism, muscle adaptation.*

Abstract: The increasing prevalence of sedentary lifestyles and obesity worldwide underscores the need to develop effective intervention strategies, whether physical or nutritional, to counteract this trend. Numerous factors, including environmental, social, and nutritional elements, contribute to obesity. In the present study, only the nutritional factor was addressed in the context of obesity development using a murine model. However, dietary changes alone are often insufficient to reverse obesity. Indeed, regular physical activity combined with food supplement with bioactive non-pharmaceutical compounds appears to be a promising approach to mitigate metabolic disorders. For many years, dietary supplements derived from microalgae have been developed in nutraceuticals, recognized for their nutritional value. Among these, spirulina, a cyanobacteria, has shown potential interest in nutrition. Thus, our study aimed to evaluate the effects of supplementation with a spirulina liquid extract (SLE), rich in phycocyanin (PC), on metabolism and physiology in young adult rats subjected to a high-fat diet and endurance training.

Three main areas were explored regarding SLE supplementation combined with endurance training: (1) physical performance and muscle adaptations under a balanced diet; (2) muscle energy metabolism during an obesogenic diet (rich in lipids and carbohydrates); (3) hepatic fatty acid metabolism in a non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model.

Over eight weeks, several physiological parameters were monitored, including body weight, food intake, and maximal exercise test performance. At week seven, a glucose tolerance test was conducted to assess glycemic regulation, often impaired by an obesogenic diet.

Plasma biochemical analyses were performed to determine glycemic profiles (glycemia, insulin) and lipid profiles (triglycerides and cholesterol). Gene expression related to muscle function and energy metabolism was analyzed in two muscle types: soleus and extensor digitorum longus. In the liver, fatty acid profiles were determined by gas chromatography, complemented by measurements of hepatic triglycerides and gene expression involved in fatty acid synthesis. With a balanced diet, SLE improved aerobic performance, as evidenced by increased maximal exercise capacity. Overexpression of key genes such as carnitine palmitoyltransferase 1A and glycogen synthase suggests enhanced muscle energy metabolism, which may explain the improved performance. Moreover, the combination of SLE supplementation and training improved glycemic regulation, with increased insulin levels and better glucose tolerance. In an obesogenic diet context, SLE reduced glycemia, improved lipid profiles, protected the liver from lipid accumulation, and favorably modulated muscle metabolism gene expression. These effects contributed to limiting complications such as type 2 diabetes, NAFLD, and cardiovascular diseases. The association with physical activity amplified these beneficial effects, indicating a synergy between supplementation and training.

In conclusion, under the experimental conditions studied, SLE appears to be a promising nutritional supplement to enhance physical performance, support energy metabolism, and mitigate the effects of an unbalanced diet.